

AUS DER KLINIK UND POLIKLINIK FÜR HALS-, NASEN-, OHRENHEILKUNDE, KOPF- UND HALSCHIRURGIE "OTTO KÖRNER" DER UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK

DIREKTOR: PROF. DR. MED. ROBERT MLYNSKI

## DIFFERENZIERUNG VON INVERTIERTEN PAPILLOMEN UND NASALEN POLYPEN MITHILFE DER OPTISCHEN KOHÄRENZTOMOGRAPHIE UND DER KONFOKALEN LASER-SCANNING MIKROSKOPIE

INAUGURALDISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DES AKADEMISCHEN GRADES

DOKTOR DER MEDIZIN

DER

UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK

ERSTGUTACHTER: PD DR. MED. BERNHARD OLZOWY

EINRICHTUNG: EHEM. KLINIK UND POLIKLINIK FÜR HALS-, NASEN-, OHRENHEILKUNDE, KOPF- UND HALSCHIRURGIE "OTTO KÖRNER" DER UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK, SEIT 10-2014 HNO-ZENTRUM LANDSBERG

ZWEITGUTACHTER: PROF. DR. RER. NAT. OLIVER STACHS

EINRICHTUNG: KLINIK UND POLIKLINIK FÜR AUGENKLINIK DER UNIVERSITÄTSMEDIZIN ROSTOCK

DRITTGUTACHTER: PROF. DR. MED. CHRISTIAN S. BETZ

EINRICHTUNG: KLINIK FÜR HALS-, NASE- UND OHRENHEILKUNDE, KLINIKUM DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

urn:nbn:de:gbv:28-diss2018-0195-5

VORGELEGT VON

NILS PHILIPP MAXIMILIAN STARKE | GEB. AM 11.12.1990 IN MÜNCHEN

AUS ROSTOCK | PRIMÄR NOVEMBER 2016, ÜBERARBEITET JUNI 2018

---

## INHALTSVERZEICHNIS

---

<b>I.</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>4</b>
1.1	CHRONISCHE RHINOSINUSITIS.....	4
1.2	INVERTIERTES PAPILLOM .....	4
1.3	DIAGNOSTIK .....	5
1.4	OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE .....	6
1.5	KONFOKALE MIKROSKOPIE.....	6
1.6	FRAGESTELLUNG.....	7
<b>II.</b>	<b>PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>8</b>
2.1	ENTWICKLUNG DER IDENTIFIKATIONS- UND DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN.....	8
2.1.1	EPITHELDICKE .....	8
2.1.2	EPITHELARCHITEKTUR .....	9
2.1.3	KRYPTEN BZW. EPITHELZAPFEN .....	9
2.1.4	KRYPTENLUMEN .....	10
2.1.5	PSEUDOZYSTISCHE RÄUME.....	10
2.1.6	VERHORNUNG .....	10
2.1.7	VAKUOLISIERTE ZELLEN.....	11
2.1.8	EPITHELIALE EINSCHLÜSSE.....	11
2.2	NICHT VERWENDETE QUALITATIVE DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN .....	12
2.2.1	BASALMEMBRANDICKE .....	12
2.2.2	ZELLINFILTRATION .....	12
2.2.3	DRÜSEN.....	12
2.3	PATIENTENAKQUISE.....	13
2.4	PROBENGWINNUNG UND –VERARBEITUNG .....	13
2.5	UNTERSUCHUNGEN .....	14
2.5.1	OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE .....	14
2.5.2	KONFOKALE MIKROSKOPIE.....	17
2.6	PROBENAUFARBEITUNG .....	20
2.6.1	HISTOLOGISCHE AUFBEREITUNG .....	20

---

---

2.6.2	MIKROSKOPIE-PHOTOGRAPHIE.....	21
2.7	OPTISCH KOHÄRENZTOMOGRAPHISCHE EPITHELDICKENMESSUNG.....	21
2.8	BILDAUFBEREITUNG UND QUALITATIVE ANALYSE MITTELS KONFOKALER MIKROSKOPIE	22
<b>III.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>24</b>
3.1	EPITHELDICKE.....	24
3.2	EPITHELARCHITEKTUR .....	27
3.3	KRYPTEN ODER EPITHELZAPFEN .....	30
3.4	KRYPTENLUMEN .....	34
3.5	PSEUDOZYSTISCHE RÄUME .....	36
3.6	VERHORNUNG.....	40
3.7	VAKUOLISIerte ZELLEN.....	41
3.8	EPITHELIALE EINSCHLÜSSE.....	43
3.9	QUANTIFIZIERUNG DER OPTISCH KOHÄRENZTOMOGRAPHISCHEN ERGEBNISSE .....	44
3.10	QUANTIFIZIERUNG DER KONFOKALMIKROSKOPISCHEN ERGEBNISSE .....	46
3.11	OPTISCH KOHÄRENZTOMOGRAPHISCHE EPITHELDICKENMESSUNG.....	47
<b>IV.</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>48</b>
4.1	VERWENDETE UNTERSUCHUNGSMETHODEN .....	48
4.2	QUALITATIVE IP-NP-DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN .....	48
4.2.1	EPITHELDICKE.....	48
4.2.2	EPITHELARCHITEKTUR .....	49
4.2.3	KRYPTEN ODER EPITHELZAPFEN .....	49
4.2.4	KRYPTENLUMEN .....	50
4.2.5	PSEUDOZYSTISCHE RÄUME .....	50
4.2.6	VERHORNUNG.....	51
4.2.7	VAKUOLISIerte ZELLEN.....	52
4.2.8	EPITHELIALE EINSCHLÜSSE.....	52
4.3	QUALITATIVE KRITERIEN ZUR DIFFERENZIERUNG ZU KARZINOMEN.....	52
4.4	QUANTITATIVE IP-NP-DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN .....	53
4.5	VERGLEICH MIT DER LITERATUR .....	55

---

---

4.5.1	KONTAKTENDOSKOPIE .....	55
4.5.2	COMPUTERTOMOGRAPHIE.....	58
4.5.3	POSITRONEN-EMISSIONS-TOMOGRAPHIE /COMPUTERTOMOGRAPHIE .....	58
4.5.4	MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE.....	59
4.6	ERWEITERUNGEN FÜR EINE NICHT-INVASIVE GEWEBEANALYSE .....	59
<b>V.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>61</b>
<b>VI.</b>	<b>VERZEICHNISSE.....</b>	<b>63</b>
6.1	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....	63
6.2	ABBILDUNGSVERZEICHNIS.....	64
6.3	TABELLENVERZEICHNIS.....	65
<b>VII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>66</b>
<b>VIII.</b>	<b>THESEN .....</b>	<b>74</b>
<b>IX.</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>76</b>
9.1	DANKSAGUNG .....	76
9.2	ROHDATEN.....	77

## **I. EINLEITUNG**

### **1.1 CHRONISCHE RHINOSINUSITIS**

Die chronische Nasennebenhöhlenentzündung (chronische Rhinosinusitis – CRS) ist ein häufiges Krankheitsbild und betrifft 5% bis 15% der Bevölkerung Europas und der USA (Fokkens, W. J. et al., 2012). Klinisch unterscheidet man die polypöse von der nicht-polypösen Form (Fokkens, W. J. et al., 2012). Die Prävalenz nasaler Polypen liegt zwischen 0,5% und 4,2% (Lund et al., 2010). In der Rhinoendoskopie stellen sie sich als meist glasige Strukturen mit glatter Oberfläche begleitet von zähem Sekret dar. Im Falle eines typischen Erscheinungsbildes ist eine zusätzliche Bildgebung anfänglich nicht erforderlich. Die Therapie erfolgt konservativ mit kortisonhaltigem Nasenspray und ggf. zusätzlichen, oralen Kortikosteroiden (Fokkens, W. J. et al., 2012). Bei nicht ausreichendem Ansprechen erfolgt eine chirurgische Sanierung mit weiter Eröffnung der befallenen Nasennebenhöhlen in Richtung Nasenhaupthöhle und Entfernung der Schleimhautschwellungen unter Erhalt des Mukoperiosts (Fokkens, W. J. et al., 2012). Vor einer Operation erfolgt in der Regel die Computertomographie (CT) zur Darstellung der knöchernen Anatomie und des Ausmaßes der polypösen Schleimhautveränderungen. Das entnommene Gewebe zeigt ein submuköses Ödem mit meist physiologischem, respiratorischem Epithel (Fokkens, W. J., Lund & Mullol, 2007).

### **1.2 INVERTIERTES PAPILLOM**

Nasale Polypen (NP) kommen meist beidseitig vor. Bei Einseitigkeit muss an Neoplasien gedacht werden, von denen die Invertierten Papillome (IP) die häufigsten Entitäten darstellen (Arslan et al., 2011). Seltener kommen auch verschiedene maligne Tumore vor (Paz Silva et al., 2015). Die Inzidenz der IP liegt zwischen 0,2 und 1,5 pro 100.000 Einwohner und pro Jahr, mit einem Inzidenzgipfel in der fünften bis sechsten Lebensdekade und einer Häufung bei Männern (Lisan, Laccourreye & Bonfils, 2016). Der Anteil der IP bei einseitiger Polyposis beträgt 16% (Tritt, McMains & Kountakis, 2008). Bei den IP handelt es sich um epitheliale Tumore der Nasennebenhöhlenschleimhaut, die invertierend in das darunterliegende Stroma wachsen (Barnes, 2005). IP sind semimaligne Tumore mit lokal destruierenden Wachstumseigenschaften und Rezidivneigungen. Maligne Anteile kommen synchron in 7,1% und metachron in 3,6% der Fälle vor (Mirza, Bradley, Acharya, Stacey & Jones, 2007).

Die Therapie ist primär chirurgisch, dabei sollten betroffene Schleimhautareale komplett, inklusive darunterliegendem Mukoperiost, unter oberflächlichem Abschleifen des Knochens, entfernt werden (Lisan et al., 2016). Die betroffenen Nasennebenhöhlen (NNH) sollten soweit eröffnet werden, dass sie bei der Endoskopie komplett eingesehen werden können (Vrabec, 1994). Diese chirurgische Radikalität ist für den Patienten mit bleibenden Einschränkungen

der Lebensqualität verbunden. Daher ist eine möglichst sichere, präoperative Diagnostik anzustreben.

In der Nachsorgesituation kommt es regelhaft zur Bildung von postoperativem Granulationsgewebe oder polypösen Schleimhautveränderungen, die makroskopisch nur schwer von IP-Rezidiven (Rezidivrate: 13%-17%; Mirza et al., 2007) zu unterscheiden sind. Auch hier wäre eine nichtinvasive, diagnostische Methode hilfreich.

### 1.3 DIAGNOSTIK

Bei einseitigen, polypösen Befunden der Nasennebenhöhlen sollte frühzeitig eine CT erfolgen. Die CT stellt Knochenstrukturen gut dar, ohne verschiedene Arten von Weichgewebe oder Sekretretentionen differenzieren zu können. Während NP die knöcherne Anatomie kaum verändern, finden sich bei IP im mittleren Meatus häufig Knochenverdrängungen und –ausdünnungen. Bei malignen Befunden ist ein infiltrierendes und destruierendes Wachstum vorzufinden (Chawla, Shenoy, Chokkappan & Chung, 2016).

Bei entsprechendem Neoplasieverdacht wird zusätzlich die Magnetresonanztomographie (MRT) eingesetzt. Diese kann Sekretverhalte und Weichgewebe differenzieren, IP stellen sich typischerweise als gewundene, cerebriforme Strukturen dar (Chawla et al., 2016).

Die Schnittbildgebung lässt eine Diagnose nicht mit ausreichender Sicherheit zu, als dass man darauf basierend eine radikale Resektion durchführen könnte. Daher wird vor einer definitiven Therapie in der Regel eine Probebiopsie zur feingeweblichen Untersuchung entnommen (Nair, James, Awasthi, Nambiar & Goyal, 2013).

Auch für die Nachsorge ist eine feingewebliche Unterscheidung zwischen IP-Rezidiv, Granulationsgewebe und polypösen Schleimhautveränderungen notwendig.

Die mögliche Koexistenz von NP und IP führt in relevanter Häufigkeit zu falsch-negativen Biopsieentnahmen, so zeigten sich in einer Studie von 44 Patienten 17% falsch-negative Biopsiefunde (Lisan et al., 2016).

Histologisch stellen sich NP als ödematöse Gewebsvermehrungen dar, meist bedeckt mit respiratorischem Flimmerepithel mit flacher und homogener Architektur (Fokkens, W. J. et al., 2007). Das mehrschichtige und invertierend wachsende IP-Epithel zeigt typische, in Richtung Stroma vordringende, Epithelzapfen teilweise mit zentralem Lumen (Hyams, 1971; Hyams, Batsakis & Michaels, 1988; Stammberger, H., 1983a; Zhao et al., 2016).

Die optische Kohärenztomographie (engl.: optical coherence tomography - OCT) und die Konfokale Mikroskopie (engl.: confocal laser-scanning microscopy - CLSM) sind zwei Bildgebungen, die histomorphologische Eigenschaften darstellen können und damit potentiell eine Differenzierung in-vivo ermöglichen (Just, T. et al., 2011).

#### **1.4 OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE**

Die OCT ist eine optische Untersuchungsmethode, die Bildinformationen aus reflektierten, zueinander kohärenten Lichtwellen des zu untersuchenden Gewebes erzeugt. Es wird ein Schnittbild erzeugt, das vergleichbar mit dem B-Bild der Sonographie ist (Fujimoto, J. & Swanson, 2016; Kraft et al., 2010).

Die Eindringtiefe hängt von der optischen Dichte des Materials ab. Bei optisch dichteren Medien, wie der Mukosa, liegt die maximale Bildtiefe bei etwa zwei Millimetern (Lankenau, E. et al., 2007; Olzowy et al., 2013). Die OCT liefert Bildinformationen über die Gewebearchitektur und ihre Details, aber keine Informationen über einzelne Zellen (Welzel, J., Reinhardt, Lankenau, Winter & Wolff, 2004). Sie kann zur Verlaufsbeobachtung einzelner Therapien angewendet werden und wird zum Beispiel in der Diagnostik von weißem Hautkrebs eingesetzt (Gambichler, T., Jaedicke & Terras, 2011; Olsen, Themstrup & Jemec, 2015; Sattler, Kästle & Welzel, 2013). Weiter kann die OCT endovaskulär zur Darstellung von verschiedenen, kardiovaskulären Läsionen verwendet werden (Villard, Cheruku & Feldman, 2009; Villard, Paranjape, Victor & Feldman, 2009). In der Ophthalmologie kann die OCT zur Diagnostik von konjunktivalen Läsionen, Erkrankungen der Retina und der Choroidea verwendet werden (Murthy, Haji, Sambhav, Grover & Chalam, 2016; Nanji, Sayyad, Galor, Dubovy & Karp, 2015). Zudem kann sie zur präziseren Biopsieentnahme bei laryngealen und pharyngealen entzündlichen, prä-malignen und malignen Entitäten zum Einsatz kommen (Davies et al., 2015; Just, T. et al., 2010; Kraft et al., 2010; Ovari, Pau & Just, 2011; Volgger, V., Arens, Kraft, Englhard & Betz, 2016).

#### **1.5 KONFOKALE MIKROSKOPIE**

Die CLSM ist eine spezielle Form der Lichtmikroskopie, bei der nur das reflektierte Licht der Fokusebene eingeblendet wird. Ähnlich des histologischen Flachschnitts entsteht durch systematisches Abtasten eine Bildebene, orthogonal zur Strahlenrichtung, die zelluläre und subzelluläre Bildinformationen liefert (Just, T., Stave, Kreutzer, Guthoff & Pau, 2007; Rajadhyaksha, Grossman, Esterowitz, Webb & Anderson, 1995; Rajadhyaksha, Anderson & Webb, 1999; Stave, J., Zinser, Grümmer & Guthoff, 2002).

Die maximale Eindringtiefe ist abhängig von der Lichtdurchlässigkeit des Gewebes und reicht bei Mukosa bis ca. 250µm (Farahati et al., 2010; Volgger, V., Conderman & Betz, 2013). Die Bildqualität nimmt mit zunehmender Gewebetiefe und je nach Keratinisierungsgrad des Gewebes ab (Farahati et al., 2010; Just, T. et al., 2011).

In der Dermatologie wird die CLSM ergänzend für die Diagnostik von Melanom-Formen, von Basalzellkarzinomen, Aktinischer Keratose, der Markierung von unklaren Läsionsgrenzen und bei der Auswahl von geeigneten Biopsiestellen verwendet (Gonzalez, Sanchez, Gonzalez-Rodriguez, Parrado & Ullrich, 2014). In der Augenheilkunde ermöglicht sie die Differenzierung

infektiöser Keratitis (Unterscheidung zwischen Bakterien, Pilzen und Protozoen), die Darstellung von kornealen Dystrophien, des Kornealen Nervenplexus, von Wirkung und Nebenwirkung topisch applizierter Medikamente sowie die Effekte und Heilung nach kornealen Eingriffen (Erie, McLaren & Patel, 2009; Guthoff, R. F., Zhivov & Stachs, 2009; Petroll & Robertson, 2015; Stachs, O., Zhivov, Kraak, Stave & Guthoff, 2007; You & Botelho, 2016). In der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde (HNO) wurde in ersten Studien gezeigt, dass eine CLSM-unterstützte Probiopsieauswahl zur Erhöhung der positiven Biopsiefunde und Verminderung der Anzahl der notwendigen Biopsieläsionen führen sowie die Identifikation von Tumorgrenzen für eine vollständige Resektion ermöglichen könnte (Abbaci et al., 2014; Boer et al., 2016; Davies et al., 2015; Just, T., Stave, Pau & Guthoff, 2005; Just, T. et al., 2011; Just, T. & Pau, 2013; Volgger, V. et al., 2013).

### **1.6 FRAGESTELLUNG**

IP bedürfen als neoplastische Erkrankung mit Rezidiv- und Entartungsrisiko einer radikaleren chirurgischen Therapie, als die sehr viel häufigeren, entzündlichen Nasenpolypen. Die Zuverlässigkeit einer Differenzierung ist mit den bisherigen diagnostischen Möglichkeiten unbefriedigend.

Im Hinblick auf die histomorphologischen Eigenschaften der IP und NP scheint eine Differenzierung mittels OCT und CLSM vielversprechend. In dieser Arbeit werden mithilfe der Literaturangaben über die histologischen Eigenschaften der IP und NP mögliche Identifikations- und Differenzierungskriterien für die OCT und CLSM aufgestellt. Prinzipiell sind beide Methoden auch in-vivo anwendbar. Die in dieser Arbeit entwickelten Kriterien werden dann auf die gewonnenen in-vivo und ex-vivo OCT- und CLSM-Bilder angewandt mit der Frage: Lassen sich IP und NP mithilfe der entwickelten OCT- und CLSM-Kriterien unterscheiden?



## **II. PATIENTEN, MATERIAL UND METHODEN**

### **2.1 ENTWICKLUNG DER IDENTIFIKATIONS- UND DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN**

---

Die in der Literatur beschriebenen Eigenschaften der IP und NP werden verglichen und daraus mögliche Identifikations- und Differenzierungskriterien erarbeitet. Die Limitationen der OCT und CLSM werden herangezogen, um bereits aus theoretischen Überlegungen nicht erfassbare Eigenschaften aus der angesetzten Bildanalyse zu streichen. Die final aus den Literaturrecherchen entwickelten Eigenschaften werden auf das gewonnene Bildmaterial angewandt.

#### **2.1.1 EPITHELDICKE**

---

Den IP wird ein unregelmäßig dickes Epithel zugesprochen, so soll das IP-Epithel zwischen 5 und 40 Zelllagen dick sein. Es finden sich keine Epitheldickenangaben in Mikrometer, nur Angaben über die IP-Epitheldicke in Zelllagen (Barnes, 2005; Vrabec, 1975; Zhao et al., 2016). Die hier verwendete OCT ermöglicht aber keine zelluläre Analyse (Welzel, J. et al., 2004), sodass keine Zelllagen gemessen und die Literaturangaben über die Zelllagen der IP mittels OCT nicht direkt verwertet werden können.

Es war keine direkte Angabe über die Epitheldicke der NP in der Literatur zu finden, sodass indirekt eine Aussage über die NP-Epitheldicke gesucht werden muss. Das Epithel der NP wird zum Großteil von respiratorischem Epithel bedeckt (Fokkens, W. J. et al., 2007). Das respiratorische Epithel ist ein einschichtiges Epithel, in welchem die einzelnen Zellen ihren Abschluss in unterschiedlichen Höhen finden und somit den Eindruck eines mehrreihigen Epithels liefern, welches mindestens 3 Zelllagen ausmacht (Kühnel, 2014).

Die Angaben über eine IP-Epitheldicke von 5 bis 40 Zelllagen, gepaart mit dem NP-Ausschlusskriterium von über 12 Zelllagen bei der Differenzierung von IP zu NP (ab einer Epitheldicke von mehr als 12 Zelllagen kann ein NP bei einem IP-NP-Kollektiv ausgeschlossen werden), suggeriert bei den IP insgesamt ein dickeres und dicken-variableeres IP-Epithel, als dass der NP (Barnes, 2005; Michaels, 1987; Vrabec, 1975; Zhao et al., 2016). Daraufhin wurde als qualitative Differenzierungseigenschaft die inhomogene Epitheldicke der IP als Eigenschaft zur IP-Identifikation und NP-Differenzierung aufgestellt.

Unterschiedliche Messmethoden ermitteln unterschiedliche Dicken von respiratorischem Epithel und unterschiedliche Nebendiagnosen scheinen die Epitheldicke zudem weiter zu beeinflussen. So ergaben histologische Messungen des respiratorischen Epithels von Nichtraucher und Rauchern eine Dicke von  $60,4\mu\text{m} \pm 18,4\mu\text{m}$  und  $111,9\mu\text{m} \pm 25,8\mu\text{m}$  (Hadar, Yaniv, Shvili, Koren & Shvero, 2009). Bei OCT-Messungen, ohne Angaben über den Nikotinkonsum,

ergab sich eine Dicke der nasalen Mukosa von  $102\mu\text{m} \pm 38\mu\text{m}$  (Mahmood et al., 2006). Weitere OCT-Messungen erbrachten, ohne Angaben über den Nikotinkonsum, eine respiratorische Epitheldicke von  $120\mu\text{m} \pm 40\mu\text{m}$  (Oltmanns et al., 2016). Ein Vergleich der verschiedenen Studien ist durch die fehlenden Angaben über den Nikotinkonsum auf Seiten der OCT-Messungen nur eingeschränkt möglich. Ein weiterer Grund für die unterschiedlichen Dickenwerte je Messart, könnten gewebe- und verfahrensabhängige Schrumpfungseffekte sein, zum Beispiel bei der histopathologischen Aufbereitung (Burck, 1988; Chatterjee, 2014; Kimura, Tayama & Chan, 2003; Rastogi et al., 2013; Vent et al., 2014).

Eine genaue Betrachtung der Epitheldickenangaben der Literatur des NP-bedeckenden respiratorischen Epithels zeigte eine Standardabweichung der Epitheldicken von stets kleiner gleich  $40\mu\text{m}$  (Fokkens, W. J. et al., 2007; Hadar et al., 2009; Mahmood et al., 2006; Oltmanns et al., 2016). In Zusammenschau mit dem NP-Ausschlusskriterium von 12 Zelllagen bei der Differenzierung von IP zu NP, wird im Umkehrschluss aus den Literaturangaben als quantitatives IP-Differenzierungskriterium gegenüber der NP eine IP-Epitheldickenstandardabweichung von größer  $40\mu\text{m}$  aufgestellt.

Zusätzlich wird in der Arbeit die Epitheldicke der IP und NP mittels OCT gemessen, sodass diese Epitheldickenwerte in Mikrometern zum Vergleich mit zukünftigen Arbeiten herangezogen werden können.

Im Hinblick auf die Literaturangaben zur Dicke des NP-bedeckenden respiratorischen Epithels und der CLSM-Eindringtiefe von  $80\mu\text{m}$  je Volumenscan wird von einer Messung der Epitheldicke mittels CLSM abgesehen (Farahati et al., 2010; Hadar et al., 2009; Just, T. et al., 2011; Mahmood et al., 2006; Oltmanns et al., 2016).

### **2.1.2 EPITHELARCHITEKTUR**

---

Bei der Beschreibung der IP wurde deren invertierende Epithelproliferation hervorgehoben, welche bei den NP nicht zu finden war (Fokkens, W. J. et al., 2007; Hyams, 1971).

Da eine Darstellung der Gewebearchitektur durch die OCT möglich ist, wird die Epithelarchitektur als Differenzierungskriterium für die OCT aufgestellt (Welzel, J. et al., 2004). In Hinblick auf die begrenzte Eindringtiefe der CLSM gilt es herauszufinden, ob die inhomogene Epithelarchitektur der IP bei größerer Epitheldicke durch die CLSM voll erfassbar ist und entsprechend eine Aussage über die Epithelarchitektur mittels CLSM zu treffen möglich ist.

### **2.1.3 KRYPTEN BZW. EPITHELZAPFEN**

---

Eine weitere mögliche Identifikationseigenschaft stellen die Epithelzapfen sowie Krypten dar, die durch ihre prägnante Architektur den IP ihren Namen geben (Stammberger, H., 1983a; Vrabec, 1975, 1994). Durch die Darstellbarkeit der Gewebearchitektur in der OCT, wird diese

---

Eigenschaft als Untersuchungskriterium angeführt. Für die CLSM, mit ihrer geringeren Eindringtiefe, wird in dieser Arbeit entsprechend der Darstellbarkeiten die Kategorie der Krypten bzw. Epithelzapfen zur IP-Identifikation mittels CLSM auf ihre prinzipielle CLSM-Erfassbarkeit hin überprüft und ggfs. verwendet.

#### **2.1.4 KRYPTENLUMEN**

Die invertierend wachsenden Epithelzapfen der IP zeigen eine Lumenbildung, welche Anschluss an die Gewebeoberfläche hat (Stammberger, H., 1983a, 1983b). Vergleichbares wird bei den NP nicht beschrieben, sodass hier ein weiteres IP-NP-Differenzierungskriterium vorliegen könnte. Dieses soll in dieser Arbeit mit der OCT und CLSM untersucht werden (Fokkens, W. J. et al., 2007).

#### **2.1.5 PSEUDOZYSTISCHE RÄUME**

Das bekannte Ödem der NP (Couto et al., 2008; Czerny, Namin, Gratton & Antisdel, 2014; Diamantopoulos, Jones & Lowe, 2000; Fokkens, W. J. et al., 2007; Hadar et al., 2009; Jiang, Kern & Altman, 2013) wird von Hellquist mit dem Begriff der flüssigkeitsgefüllten Pseudozystischen Räume (PR) genauer beschrieben (Hellquist, H. B., 1996). Dieser Begriff ist für unsere Arbeit hilfreich, da sich die Größe dieser Räume als mögliches Unterscheidungskriterium der verschiedenen Erscheinungsformen des Ödems bei NP und IP herausstellen könnte. Laut der 266. Ausgabe des Pschyrembel handelt es sich bei einer *Pseudozyste* um eine Zyste, die „nur von Bindegewebe umgeben [ist]“ (Pschyrembel & Dornblüth, 2014). Im Gegensatz zur *echten Zyste*, die per Definition „mit Epithel ausgekleidet [ist]“ (Pschyrembel & Dornblüth, 2014).

Das Stroma der IP ist vielgestaltig, mal aufgelockert ödematös, mal fibrosiert geschrumpft (Hysams et al., 1988; Vrabec, 1975). Die von Hellquist detaillierter beschriebenen PR sind bisher nicht quantifiziert oder vermessen worden, sodass keine festgelegten Größenangaben zu finden sind. Ziel der Arbeit ist es, im Hinblick auf die in der Histologie beschriebenen Unterschiede im Gewebsödem-Status der IP und NP, durch Vermessen von PR eine quantifizierbare Messergröße zur IP-NP-Differenzierung aufzustellen.

Die in dieser Arbeit verwendete Eindringtiefe der CLSM von 80µm erfasst im Hinblick auf die Literaturangaben der Epitheldicke des NP-bedeckenden respiratorischen Epithels nicht das Stroma in welchem sich die PR befinden. Demnach ist keine Untersuchung der PR mittels CLSM möglich.

#### **2.1.6 VERHORUNG**

Für die NP wird eine plattenepitheliale Metaplasie ohne Verhornung (Keratinisierung) beschrieben (Fokkens, W. J. et al., 2007), aber bei 10% bis 20% der IP ist eine Keratinisierung zu finden sein (Barnes, 2005). Dadurch stellt die Verhornung ein hinreichendes, aber nicht

notwendiges Identifikationskriterium für IP gegenüber NP dar (Barnes, 2005; Fokkens, W. J. et al., 2007; Hellquist, H. B., 1996; Hyams, 1971).

Keratin stellt sich in der OCT als signalintense Schicht dar (Hamdoon et al., 2012; Sattler et al., 2013). In der CLSM zeigen kernfreie Zellen eine Verhornung auf (Guthoff, R., Baudouin & Stave, 2006). Schlussfolgernd aus den Literaturangaben müssten die fakultativ auftretenden Verhornungen der IP in der OCT und CLSM darstellbar sein. Die Verhornung im Sinne einer signalintensiven Schicht in der OCT oder kernfreien Zellen in der CLSM werden in dieser Arbeit untersucht.

### **2.1.7 VAKUOLISIERT ZELLEN**

Im Epithel der IP wurden vakuolisierte Zellen identifiziert (Hyams, 1971; Michaels, 1987), entsprechende Befunde wurden für die NP nicht aufgestellt, im respiratorischen Epithel wurden aber Becherzellen beschrieben (Fokkens, W. J. et al., 2012; Hellquist, H. B., 1996). Hyams zeigte mithilfe von Spezialfärbungen eine Glykogenfüllung dieser vakuolisierten Zellen der IP (Hyams, 1971). Jain et al. postulierten, dass sie Glykogen bei ihrer Untersuchung von frischen, unbearbeiteten Nierentumoren mit der Full-field OCT als optisch sehr dichte, intrazelluläre, punktförmige Strukturen identifizieren konnten (Jain et al., 2015). Die hier verwendete, geringer auflösende OCT kann keine einzelnen intrazellulären Strukturen oder andere zelluläre Informationen darstellen (Welzel, J. et al., 2004), weswegen die vakuolisierten Zellen nicht mit der OCT untersucht wurden.

Wie sich Glykogen in der Darstellung der CLSM verhält ist bisher nicht bekannt. Diese speziellen Zellen weisen durch ihren vakuolisierten Charakter aber zudem auch zytomorphologische Eigenschaften auf (randständiger Zellkern durch Vakuolen-Verdrängung), die für die CLSM, als Untersuchungsmethode mit Darstellungsmöglichkeiten von zellulären Eigenschaften (Just, T. et al., 2007; Rajadhyaksha et al., 1995; Rajadhyaksha et al., 1999; Stave, J. et al., 2002), ein untersuchbares Phänomen darstellen könnte. Die vakuolisierten Zellen wurden mit der CLSM untersucht.

### **2.1.8 EPITHELIALE EINSCHLÜSSE**

Bei den IP wurden intraepitheliale Zysten beschrieben, die mit schleimproduzierenden Zellen, Mukus und teilweise mit zellulären Abbauprodukten gefüllt seien (Barnes, 2005; Hyams, 1971; Hyams et al., 1988; Snyder & Perzin, 1972). Intraepitheliale Zysten wurden bei den NP nicht erwähnt, Becherzellen wurden aber beschrieben, (Fokkens, W. J. et al., 2007; Hellquist, H. B., 1996). Es fanden sich keine Größenangaben über die intraepithelialen Zysten. Durch die unterschiedlichen Füllbestandteile werden sie entgegen der Bezeichnung von Hyams (mucous cysts) hier als epitheliale Einschlüsse bezeichnet. Für die OCT-Untersuchung wird in dieser

Arbeit prinzipiell auf epitheliale Einschlüsse geachtet, eine präzise Identifikation ist bei fehlenden Größenangaben in der Literatur aber erschwert. Die CLSM vermag zystische Strukturen darzustellen (Guthoff, R. et al., 2006), sodass epitheliale Einschlüsse mit der CLSM untersucht werden. Eine Differenzierung zwischen kleinen epithelialen Einschlüssen zu einzelnen vakuolisierten Zellen könnte durch die potentiell ähnliche Konfiguration erschwert sein. Die Differenzierung zu Becherzellen ist durch die erhöhten Lichtreflexe der Becherzellen eindeutig (Guthoff, R. et al., 2006).

## **2.2 NICHT VERWENDETE QUALITATIVE DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN**

### **2.2.1 BASALMEMBRANDICKE**

Die Basalmembran der IP ist regelrecht (Hyams, 1971). Widersprüchlich zeigen sich die Angaben über die Basalmembrandicke der NP. Die Basalmembran von NP ist je nach Autor mit  $22.6\mu\text{m} \pm 13.9\mu\text{m}$  verdickt (Saitoh et al., 2009) oder mit ungefähr  $7\mu\text{m}$  ohne signifikanten Unterschied zur Kontrollgruppe (Czerny et al., 2014). Aufgrund dieser widersprüchlichen Angaben wird die BM-Dicke zur Unterscheidung von IP und NP nicht untersucht.

### **2.2.2 ZELLINFILTRATION**

Während bei NP häufig eine Infiltration durch eosinophile Granulozyten vorliegt, finden sich bei IP nur inkonstant nicht-eosinophil dominierte Entzündungszellinfiltrate (Fokkens, W. J. et al., 2007; Lou et al., 2016; Vrabec, 1994). Mit Untersuchungsmethoden, die die einzelnen Granulozyten voneinander unterscheiden können, wäre mit der Eosinophileninfiltration ein hinreichendes, aber nicht notwendiges, NP-Identifikationskriterium gegenüber den IP gefunden. Die Differenzierung einzelner Granulozyten ist durch keine der beiden verwendeten Methoden möglich (Guthoff, R. F. et al., 2009; Welzel, J. et al., 2004). Ein Kriterium der Zellinfiltration wird daher nicht untersucht.

### **2.2.3 DRÜSEN**

Drüsen finden sich bei den IP selten bis nie (Barnes, 2005), wohingegen das Stroma von NP teilweise Drüsen aufweisen kann (Fokkens, W. J. et al., 2007; Hellquist, H. B., 1996). Drüsenkörper können mit der CLSM dargestellt werden (Guthoff, R. et al., 2006) und es finden sich auch OCT-Darstellungen von Drüsen (Mahmood et al., 2006). Die Drüsen zeigen eine zelluläre Begrenzung auf, wodurch sie unter anderem histologisch von den PR zu unterscheiden sind. Kleine Drüsen könnten mit kleinen PR verwechselt werden. Sollte fälschlicherweise ein NP-Drüsenkörper bei der OCT-Auswertung mit einem PR verwechselt werden, wäre die diagnostische Zuordnung zu den NP immer noch korrekt. Durch die geringe CLSM-Eindringtiefe sind

stromale Drüsen nicht darstellbar. Drüsen werden als Differenzierungskriterium nicht untersucht, da das Vorliegen von Drüsen eine diagnostische Tendenz hin zu NP, aber kein Ausschlusskriterium für IP wäre.

### 2.3 PATIENTENAKQUISE

Potentielle Patienten wurden über die Nasennebenhöhlen-Sprechstunde der Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie „Otto Körner“ der Universitätsmedizin Rostock von Dezember 2012 bis März 2014 akquiriert. Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät Rostock prüfte die hier beschriebene Studie mit der Registrierungsnummer A 2012-0142 und bewilligte diese am 10.12.2012.

Im genannten Zeitraum konnten fünf IP-Patienten untersucht werden. Diese wurden präoperativ aufgeklärt und ein schriftliches Einverständnis eingeholt. Als Vergleichskollektiv wurden fünf NP-Patienten in die Studie eingeschlossen.

Tabelle 1 Angaben über das Patientenkollektiv

Patienten-Nr. – Diagnose	Alter in Jahren	Geschlecht
Patient Nr. 1 – IP	81	Männlich
Patient Nr. 2 – IP	64	Weiblich
Patient Nr. 3 – IP	73	Weiblich
Patient Nr. 4 – IP	57	Weiblich
Patient Nr. 5 – IP	56	Männlich
Patient Nr. 6 – NP	29	Weiblich
Patient Nr. 7 – NP	56	Männlich
Patient Nr. 8 – NP	72	Weiblich
Patient Nr. 9 – NP	43	Männlich
Patient Nr. 10 – NP	77	Männlich

Die in der Literatur beschriebene männliche Dominanz der IP-Diagnose bestand bei unserem Patientenkollektiv nicht (♀50% : ♂50%, Siehe Tabelle 1).

### 2.4 PROBENGEWINNUNG UND –VERARBEITUNG

Im Rahmen der operativen Sanierung erfolgte nach Narkoseeinleitung und vor OP-Beginn zunächst eine endoskopische Fotodokumentation. Im Anschluss wurde je nach Verfügbarkeit ggf. die in-vivo OCT oder in-vivo CLSM durchgeführt.

Das mittels in-vivo Diagnostik untersuchte Areal wurde möglichst atraumatisch entnommen und für die ex-vivo Untersuchung in isotonischer Kochsalzlösung gelagert und beschriftet. Vor

den ex-vivo Untersuchungen wurde die Probe fotodokumentiert, die CLSM und die OCT durchgeführt und zuletzt die dann formalin角度lagerte Probe der histopathologischen Aufarbeitung noch am OP-Tag zugeführt.

## 2.5 UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 2 Untersuchungen je Patientengruppe und Untersuchungsart

Gruppe	In-vivo OCT	Ex-vivo OCT	In-vivo CLSM	Ex-vivo CLSM
IP	1	4	1	5
NP	0	5	4	5

Durch begrenzte Verfügbarkeitszeiträume war keine komplette Untersuchung von allen zehn Patienten mit allen Untersuchungsarten möglich. Die Tabelle 2 zeigt die erfolgten Untersuchungen.

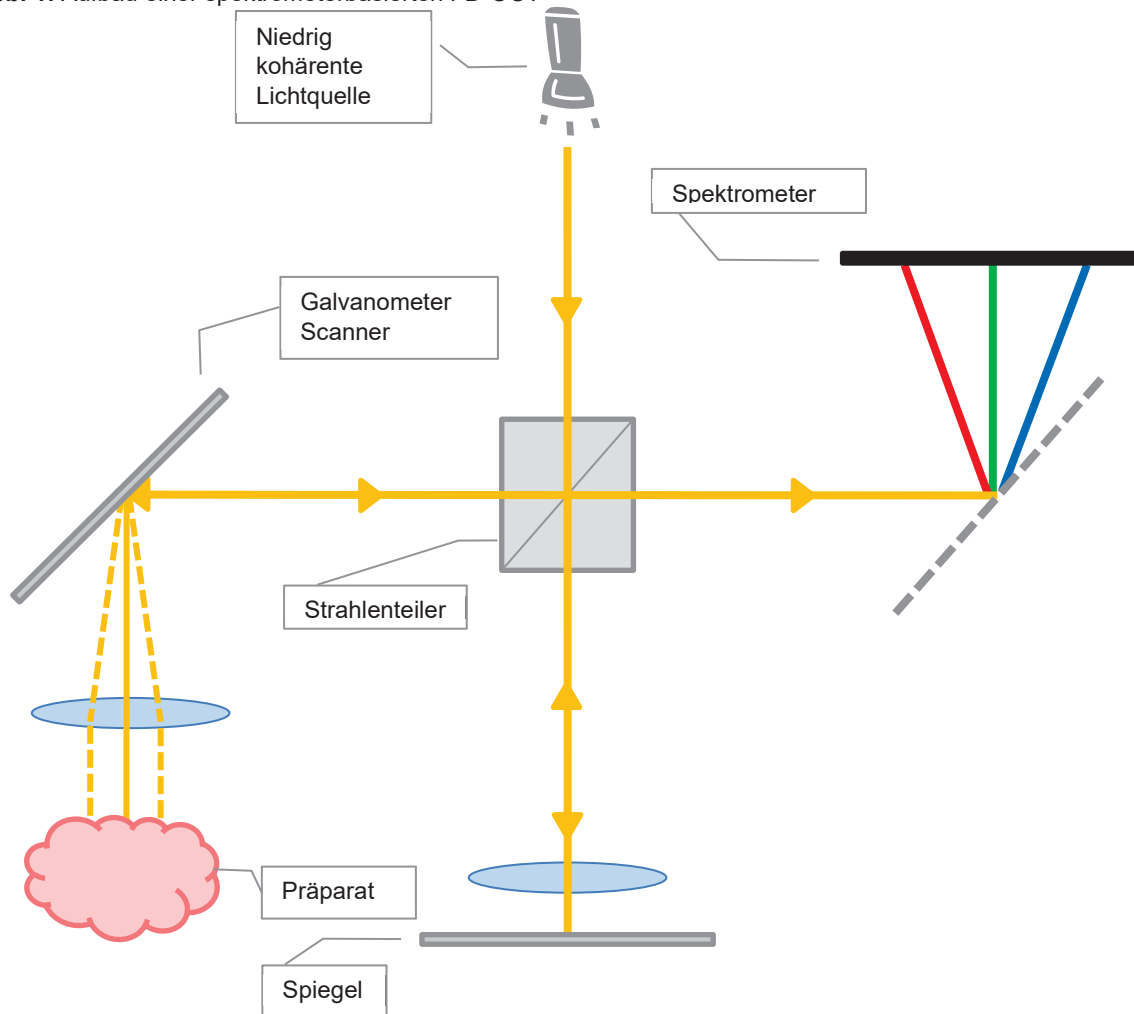
### 2.5.1 OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE

Ursprünglich entstammt die optische Kohärenz Reflektometrie aus der Telekommunikationsindustrie, dort wurde sie als eindimensionale Distanzmesstechnik zur Detektion von Schäden in Glasfasernetzwerken entwickelt. Die optische Kohärenztomographie wurde das erste Mal 1991 am Institut für Technologie Massachusetts unter der Leitung von J. G. Fujimoto zur Darstellung eines Querschnittes der Retina im medizinischen Bereich verwendet (Huang, D. et al., 1991).

Die Grundbausteine der OCT stellen ein Michelson-Interferometer mit einem Referenz- und einem Probenarm dar (Zysk, Nguyen, Oldenburg, Marks & Boppart, 2007). Infrarotes Licht mit einer kurzen Kohärenzlänge wird in zwei separate Strahlen geteilt, die jeweils zum Referenzspiegel und zur Probe geschickt werden. Die Lichtstrahlen werden sowohl vom Spiegel als auch vom Gewebe reflektiert und werden dann von einem Photodetektor ermittelt. Durch den Vergleich von interferierenden Lichtstrahlen, kann die Distanz und Reflektionsintensität des reflektierenden Objektes errechnet werden. Mit einzelnen Aufnahmen wird ein amplituden-Scan (Axialer Scan – A-Scan) erstellt. OCT brightness-Scans (B-Scan) ergeben sich durch systematisches, transversales Abtasten der Probe und Aneinanderlagern der gewonnenen Informationen (Lankenau, E. et al., 2007; Volgger, V., Arens et al., 2016; Wisweh, 2010). Die Auflösung wird über die Kohärenzlänge beeinflusst (Welzel, J. et al., 2004).



**Abb. 1:** Aufbau einer spektrometerbasierten FD-OCT



Quelle: eigene Darstellung, inspiriert durch Gambichler, T. et al., 2011

### Arten der OCT

Die beiden großen Gruppen der OCT stellen die Time-Domain (TD) -OCT und Frequency-Domain (FD) -OCT dar. Diese unterscheiden sich dahingehend, wie das Referenzsignal zustande kommt: bei der TD-OCT wird das Referenzsignal für jede Gewebetiefe durch die mechanische Bewegung des Referenzspiegels generiert, wohingegen bei der FD-OCT der Referenzarm still stehen bleibt und durch Auswertung der wellenzahlabhängigen Kreuzkorrelationen die Signaltiefe ermittelt wird. Dadurch wird eine höhere Bildakquisitionsrate möglich (Volgger, V., Arens et al., 2016; Wisweh, 2010). Die FD-OCT wird in die spektrometerbasierte oder Spectral Domain (SD) OCT und die Swept-Source OCT eingeteilt (Wisweh, 2010; Yaqoob, Wu & Yang, 2005). In dieser Arbeit wird eine spektrometerbasierte OCT verwendet.

Der Photodetektor der TD-OCT wird bei der spektrometerbasierten FD-OCT durch ein Spektrometer ausgetauscht. Ein Transmissionsgitter spaltet das reflektierte Licht in die einzelnen spektralen Komponenten. Durch eine inverse Fourier-Transformation der spektralen Kompo-



nenten des Reflexivitätsprofils der Probe kann der A-Scan ermittelt werden. Durch diese technischen Umstellungen, erhält man mit einer einzelnen Aufnahme einen kompletten Tiefenscan. Diese Veränderungen, besonders die geringe Anzahl der zu verschiebenden Bestandteile, beschleunigt die Bildakquisitionsrate der spektrometerbasierten FD-OCT im Vergleich zur TD-OCT deutlich (Schmutzler, 2008; Wisweh, 2010).

#### **a. IN-VIVO OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE**

Eine spektrometerbasierte FD-OCT (Spectral Radar; Thorlabs HL AG, Lübeck, Germany), entwickelt durch das Institut für Biomedizinische Optik der Universität Lübeck und bereitgestellt durch die Thorlabs HL AG (Lübeck, Deutschland), war an den Kameraanschluss eines OP-Mikroskops (HiRes1000, Möller-Wedel, Wedel, Germany) montiert worden. Dabei wurden die gleichen Optiken für die konventionellen Bilder, wie für die OCT-Bilder verwendet. Ein grüner Pilotstrahl diente als Orientierung im Operationsgebiet und markierte den vom OCT erfassten Bereich. Ein einzelner B-Scan ausgehend vom markierten Zentrum des Blickfeldes war durch eine monoaxiale Abtastung möglich. Es erfolgte eine kontaktfreie Untersuchung mit einer Arbeitsdistanz von 23,2cm bis 29cm (Lankenau, E. et al., 2007).

Dieses spektrometerbasierte FD-OCT beinhaltet eine Superlumineszenz-Diode mit einer zentralen Wellenlänge von 840nm und einer axialen Auflösung von 11µm in Luft (Lankenau, E. et al., 2007). Die laterale und axiale Auflösung im Gewebe lag bei 24µm resp. 12µm (Just, T., Lankenau, Huttman & Pau, 2009). Die Konfigurationen der verwendeten SD-OCT ergaben eine B-Scan-Bildtiefe von 3,6mm in Luft und eine mediumsunabhängige B-Scan-Bildbreite von 6,17mm. Die Datenerfassung erfolgte in einer Rate von 1220 A-Scans/Sekunde (Lankenau, E. et al., 2007).

Am bereits narkotisierten Patienten, erfolgte die in-vivo OCT Untersuchung. Für die Bildakquise musste das zu untersuchende Areal mit dem OP-Mikroskop eingestellt werden und annähernd koronar ausgerichtet sein.

#### **b. EX-VIVO OPTISCHE KOHÄRENZTOMOGRAPHIE**

Verwendet wurde die Spectralis OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany). Dieses Gerät verbindet eine spektrometerbasierte FD-OCT mit einer Konfokalen Laser-Scanning Ophthalmoskopie innerhalb eines Gerätes. Wie beim Versuchsaufbau von Prakasam et al., wurde eine aufsetzbare Objektlinse verwendet, die die Scanebene zum Gerät hin verlagert (Prakasam, Schwiede, Hütz, Guthoff & Stachs, 2012). Die zentrale Wellenlänge betrug laut Hersteller 815nm.

Beim Spectralis OCT können bis zu 40.000 A-Scans pro Sekunde aufgenommen werden. Diese Bilder besitzen eine optische Tiefen-Auflösung von 7µm und eine digitale Tiefen-Auflösung von 3,5µm. Die laterale Auflösung lag bei 20µm, die axiale Auflösung bei 5µm (Wenner, Wismann, Jäger, Pons-Kühnemann & Lorenz, 2011).

Die Distanz der einzelnen B-Scans innerhalb eines 3D-Scanvorgangs betrug 250µm (Heidelberg Engineering GmbH, 2014; Prakasam et al., 2012; Wenner et al., 2011).

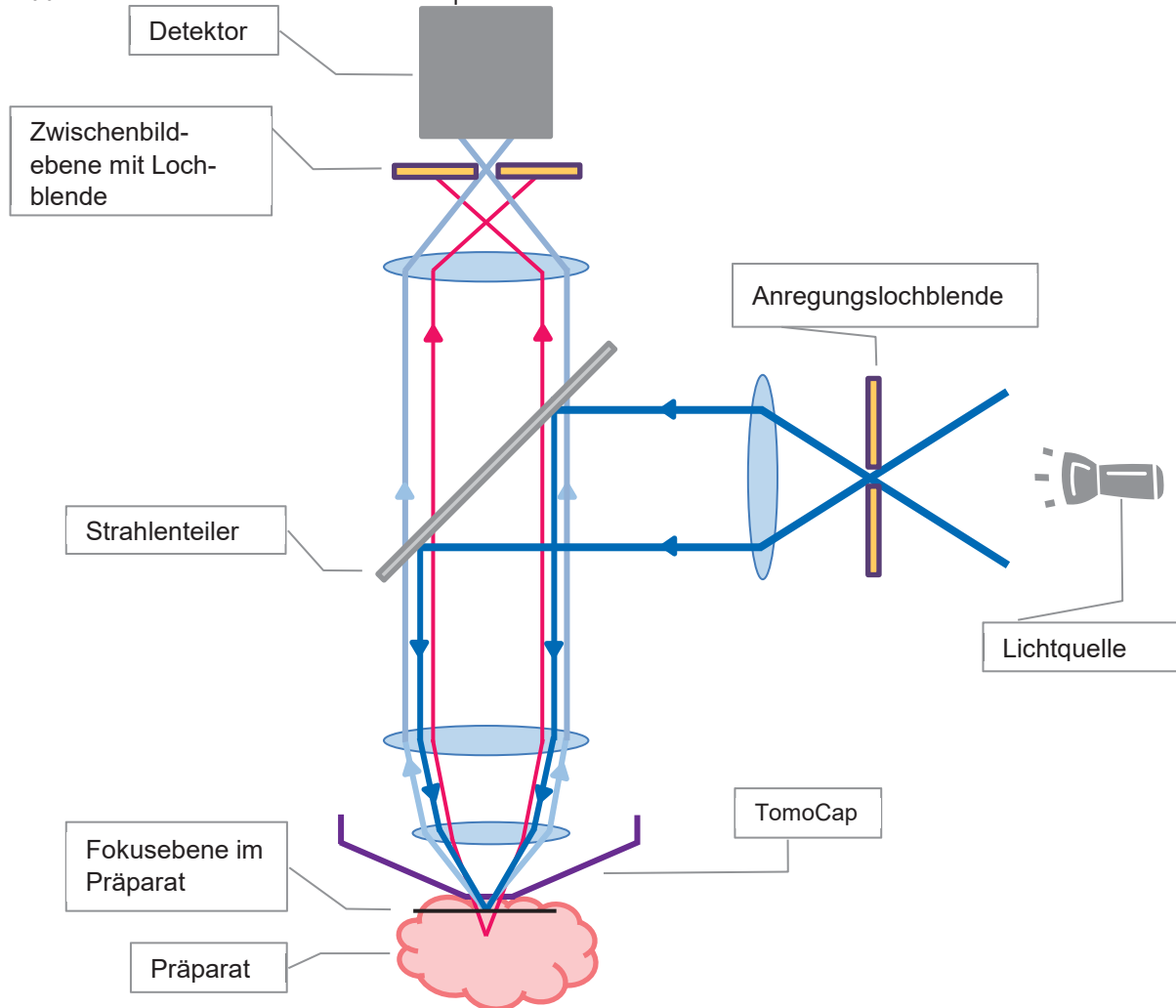
### **2.5.2 KONFOKALE MIKROSKOPIE**

---

Patenthalter und Erfinder der Konfokalen Mikroskopie ist Marvin Minsky, der 1957 das Patent unter dem Namen „Microscopy apparatus“ anmeldete (Minsky, 1957). Durch die Weiterentwicklung und Kommerzialisierung der Arbeitsgruppe um White entstand aus dem Apparat von Minsky die CLSM (Guthoff, R. F. et al., 2009; Paddock & Eliceiri, 2014; Piérard, 1993; White, Amos & Fordham, 1987).

Bei der CLSM wird Licht von einer Lichtquelle mithilfe einer Lochblende eingegrenzt. Das Licht passiert einen Strahlenteiler und wird - durch ein Objektiv gebündelt - auf das Untersuchungsobjekt gelenkt. Durch entsprechende Einstellungen kann schon vorab festgelegt werden, welche Ebene des Untersuchungsobjektes vom gebündelten Lichtstrahl getroffen werden soll. Das Licht wird dann vom Objekt reflektiert, wieder vom Objektiv gebündelt und trifft dann auf den Strahlenteiler, der das reflektierte Licht nun in Richtung Detektor umlenkt. Bevor das reflektierte Licht auf den Detektor trifft, werden mithilfe einer weiteren Lochblende Streustrahlung und Informationen aus anderen Ebenen als der zu untersuchenden Fokusebene aufgehalten, sodass letztendlich nur die Bildinformationen auf den Detektor treffen, die von dem zu untersuchenden Punkt des Objekts in der zu untersuchenden Fokusebene stammen. Dieser Vorgang allein liefert nur wenige Informationen. Wenn er, ähnlich wie bei einem Rasterelektronenmikroskop, systematisch über eine vorgegebene Fläche für jeden Punkt dieser Fläche durchgeführt wird, liefert es ein hochauflösendes Bild der Fokusebene. Die Fokusebene dieses entstandenen Bildes kann auch unter der Oberfläche des Untersuchungsobjektes liegen, also eine gewisse Tiefensicht bieten. Die so wiedergegebene Bildebene ist orthogonal zur Strahlenrichtung, von der Ausrichtung vergleichbar mit einem histologischen Flachschnitt (Just, T. et al., 2007; Stave, J. et al., 2002). Die Bildqualität nimmt mit zunehmender Gewebetiefe und je nach Keratinisierungsgrad des Gewebes stärker ab (Farahati et al., 2010; Just, T. et al., 2011).

**Abb. 2:** Aufbau einer Konfokalen Mikroskopie



Quelle: eigene Darstellung, inspiriert durch Guthoff, R. et al., 2006

### Arten der CLSM

2002 konnten dann Stave et al. von weiteren Verbesserungen der konfokalen Untersuchungsmöglichkeiten des Auges berichten. Es gelang der Rostocker Arbeitsgruppe einen Heidelberg Retina Tomographen (HRTII, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland), mit einem eigens entwickelten Rostocker Cornea Modul (RCM, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland) zu erweitern, sodass daraus ein digital-konfokales Laser-Scanning Rastermikroskop entstand. Dank eines mechanischen Z-Scans konnte die gesamte Tiefe des vorderen Augenabschnittes untersucht werden und kombiniert mit der ursprünglichen Funktion des HRTII, war damit die komplette Darstellung und Vermessung der okularen Bestandteile bis zur Retina möglich (Stave, J. et al., 2002).

#### a. IN-VIVO, ENDOSKOPISCHE KONFOKALE MIKROSKOPIE

Für die In-vivo Diagnostik wurde der Heidelberg Retina Tomograph (HRTII, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland), ein Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 670nm

(Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg), das Rostocker Cornea Modul (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland), ein Wasserimmersionsobjektiv (Zeiss, Jena, Deutschland), ein Kontaktgel (Vidisc®; Dr. Mann Pharma, Berlin, Deutschland), ein starres, maßgefertigtes Endoskop (Länge 23cm, Durchmesser 5mm, autoklavierbar, KARL STORZ GmbH & Co. KG; Tuttlingen, Deutschland,) mit einem passenden Verbindungsstück (KARL STORZ GmbH & Co. KG; Tuttlingen, Deutschland) verwendet (Farahati et al., 2010). Das Verbindungsstück lag zwischen dem Endoskop und dem Komplex aus HRTII und dem RCM. Da die Möglichkeit von Reflektionen am Übergang vom Wasserimmersionsobjekt zum Endoskop bestand, wurde eine Verzögerungsplatte ( $\lambda/4$ -Plättchen) vom HRTII entfernt (Just, T. et al., 2011).

Die mögliche, maximale Eindringtiefe lag zwischen 100 $\mu$ m und 240 $\mu$ m. Die Zeit für einen Volumenscan lag bei 6 Sekunden und die untersuchte Tiefe eines einzelnen Volumenscans war mit 40 Bildern bei insgesamt 80 $\mu$ m angesiedelt. Die axiale Auflösung lag bei 5 $\mu$ m und die laterale Auflösung bei 1-2 $\mu$ m (Farahati et al., 2010; Just, T. et al., 2011).

Zu Beginn der Nasennebenhöhlen(NNH)-Operation - also am narkotisierten Patienten - wurde vom Operateur die in-vivo CLSM-Apparatur manuell in Kontakt mit dem zu untersuchenden Gewebe gebracht. Ein Geräteassistent stellte die Z-Achse kurz vor die Spitze des Endoskops, sodass der Volumenscan an der Oberfläche des Epithels beginnen konnte. Vor dem tatsächlichen Volumenscan wurde noch einmal das Kontaktgel auf die Endoskopspitze aufgetragen, da durch das vorherige Justieren ein Großteil des Kontaktgels verloren ging. Nach Positionierung der Endoskopspitze auf dem Zielgewebe durch den Operateur startete der Geräteassistent auf Anweisung den Z-Scan per Fußschalter. Dieses Prozedere wurde einige Male wiederholt. Die Dauer der Messungen betrug maximal 7 Minuten. Die endoskopisch untersuchten Gewebeanteile wurden dann entnommen und für die Ex-vivo Untersuchungen vorbereitet.

#### **b. EX-VIVO KONFOKALE MIKROSKOPIE**

---

Verwendete Bestandteile der CLSM waren der HRTII, ein Diodenlaser mit einer Wellenlänge von 670nm (Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland), das RCM, ein Wasserimmersionsobjektiv (Carl Zeiss, Jena, Deutschland), ein Kontaktgel (Vidisc®, Dr. Mann Pharma, Berlin, Deutschland) und eine desinfizierbare Polymethyl-Methacrylat-Kappe (TomoCap®, Heidelberg Engineering GmbH, Heidelberg, Deutschland).

Die axiale Auflösung betrug 1-2 $\mu$ m, die laterale Auflösung betrug 0,430 $\mu$ m, eine maximal 800fache Vergrößerung war möglich, die maximale verwendete Scantiefe lag bei diesen Untersuchungseinstellungen bei 80 $\mu$ m. Die Bildgröße betrug 400 $\mu$ m x 400 $\mu$ m und die Scandauer 0,024 Sekunden pro Bild. Ein einzelner Volumenscan dauerte 6 Sekunden (Guthoff, R. et al., 2006).

Zur ex-vivo CLSM-Untersuchung wurde die Probe auf einem Papiertuch gelagert, damit beim manuellen Ausrichten der Probe zur CLSM, diese nicht entgleiten konnte. Die ehemals zum Lumen zeigende Probenseite wurde an die TomoCap, welches die Spitze der CLSM darstellt, gehalten. Die Z-Achse des stationären CLSM wurde bis zur TomoCap und von dort wenige Mikrometer in die Probe hinein gelegt, sodass das Oberflächenepithel der Probe auf dem Bildschirm zu sehen war. Dann wurde ein gleichmäßiger Abschnitt innerhalb der Probenoberfläche aufgesucht. Die Z-Achse wurde auf das äußerste Ende der TomoCap ausgerichtet und eine ruhige Körperhaltung eingenommen. Mit dem Fusspedal wurde der Volumenscan initiiert. Eine weitere homogene Stelle innerhalb des Gewebeverbands wurde aufgesucht und dieser Prozess wurde so lange wiederholt, bis augenscheinlich, ausreichend repräsentative Videos aufgenommen wurden.

## **2.6 PROBENAUFARBEITUNG**

---

Nach der Untersuchung mittels OCT und CLSM wurde das Gewebe histologisch aufgearbeitet, um die generierten Bilder mit HE-Schnitten zu korrelieren.

### **2.6.1 HISTOLOGISCHE AUFBEREITUNG**

---

Bei der histologischen Aufbereitung handelte es sich mit der Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) um Routineverfahren des Pathologischen Instituts der Universität Rostocks, welche mithilfe von automatisierten Prozessen durchgeführt wurden. Als Fixierungsmittel wurde 10 % neutral gepuffertes Formalin verwendet.

Zur Gewebeseinbettung, also zur Fixierung, Dehydrierung, Klärung und Infiltration mit Paraffin wurde der Thermo Scientific Excelsior AS (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) verwendet.

Die manuelle Schnitterstellung erfolgte entweder am Schlittenmikrotom SM 2010 R (Leica Biosystems, Nussloch, Deutschland) oder am Rotationsmikrotom RM 2155 (Leica Biosystems, Nussloch, Deutschland). Die Schnitte wurden danach im Wasserbad bei 48°C schwimmend auf einen Objektträger aufgezogen. Im Wärmeschrank trockneten diese für 20 Minuten bei 90°C, um danach abzukühlen.

Das Thermo Shandon Histocentre 3 Embedding Center (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) stellte die folgende Paraffinausgießstation dar. Zum Entparaffinieren und Färben von Paraffinschnitten kam der Leica Biosystems ST 5020 Multistainer (Leica Biosystems, Nussloch, Deutschland) zum Einsatz. Das Eindecken von gefärbten Paraffinschnitten übernahm der Leica CV5030 Glaseindeckautomat (Leica Biosystems, Nussloch, Deutschland).

## 2.6.2 MIKROSKOPIE-PHOTOGRAPHIE

Die Mikroskopie-Photos wurden an einem Mikroskop BX53 (Olympus, Tokio, Japan), gekoppelt mit einer digitalen Mikroskopkamera DP72 (Olympus, Tokio, Japan) und mit der CellSens-Imaging Software (Olympus, Tokio, Japan) erstellt. Es waren Vergrößerungen um den Faktor 40, 100, 200 und 400 möglich.

## 2.7 OPTISCH KOHÄRENZTOMOGRAPHISCHE EPITHELDICKENMESSUNG

Aufgrund der Auflösung der OCT konnten keine einzelnen Zellreihen ausgemacht werden, deswegen mussten die Epitheldickenmessungen in dieser Arbeit in Mikrometern erfolgen.

Um einen Untersucherbias einzudämmen, erfolgten jeweils fünf Epitheldickenmessungen je Bild, in der Nähe der beiden Ränder und eine dritte mittige Messung, wobei versucht wurde, für die jeweilige Region, repräsentative Bereiche zu messen. Des Weiteren wurde als vierter und fünfter Wert, die maximale und minimale Epitheldicke erhoben.

Bei Distanzmessungen in OCT-Bildern musste der unterschiedliche, gewebespezifische Brechungsindex für Distanzangaben in Strahlenrichtung (Y-Achse (b)) mit einberechnet werden. Dabei wurde ein allgemeiner Gewebe-brechungsindex (BI) zu Grunde gelegt (Daniltchenko et al., 2006; Steiner, 2013). Die gemessene Distanz auf der X-Achse (a) musste nicht angepasst werden. Mit dem Programm Adobe Photoshop (Version 12.0.4 x32 CS5, Hersteller: Adobe) wurde die Länge der Distanzmessungen in X- und in Y-Achse in Pixeln gemessen. Unter Verwendung der Bildkantenlängen konnte ein Verhältnis von Pixeln zu Millimetern hergestellt werden (Vgl. Herstellerangaben). Die gemessene Distanz auf der Y-Achse (b) wurde durch den allgemeinen Gewebebrechungsindex (BI) von 1,4 dividiert und unter Zuhilfenahme des Satzes von Pythagoras wurde dann die endgültige Epitheldicke (c) in Mikrometern ermittelt (Siehe Formel 1).

Die Aufzeichnungen der Messdaten sowie die Berechnungen erfolgten im Programm Excel 2013 (Version 15.0.5031.1000 x32, Hersteller: Microsoft).

Formel 1

Epitheldickenmessung unter Einbeziehung der Lichtausbreitungsgeschwindigkeit im Gewebe

$$\sqrt{a^2 + \left(\frac{b}{BI}\right)^2} = c \quad (1)$$

a: gemessene Distanz auf der X-Achse

b: gemessene Distanz auf der Y-Achse bzw. in Strahlenrichtung

BI: allgemeiner Gewebebrechungsindex von 1,4

c: Epitheldicke

(Quelle: eigene Überlegungen)

Wie bei der in-vivo OCT, konnte auch bei der ex-vivo OCT die Distanzmessung in der Y-Achse in Pixeln gemessen und unter Zuhilfenahme der abgebildeten Skala dann in Mikrometer umgerechnet werden. Nach dem oben beschriebenen Konzept konnte dann die tatsächliche Epitheldicke in Mikrometern ermittelt werden (Siehe Formel 1).

## **2.8 BILDAUFBEREITUNG UND QUALITATIVE ANALYSE MITTELS KONFOKALER MIKROSKOPIE**

Die Bildanalyse der CLSM musste mit folgenden Schritten vorbereitet werden: Die gewonnenen Volumen-Scans wurden als Videos im avi-Format abgespeichert. Mithilfe des „Free Video to JPG Converters“ wurden aus den Videos einzelne JPG-Bilder erstellt (Downloadlink <http://www.dvdvideosoft.com/de/products/dvd/Free-Video-to-JPG-Converter.htm#.VTTEG-HkcRMt> vom 20.04.2015).

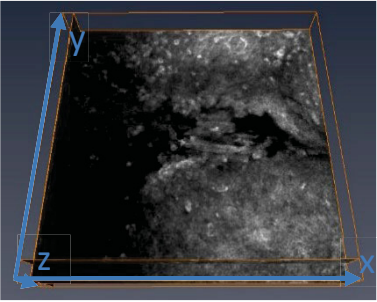
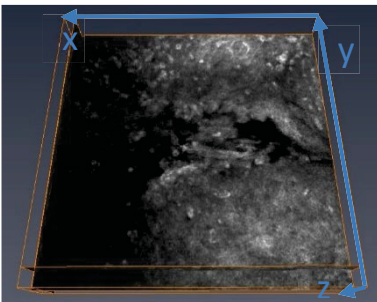
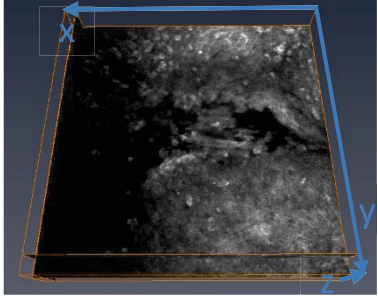
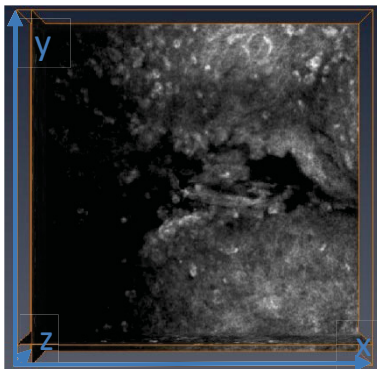
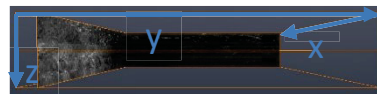
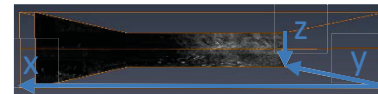
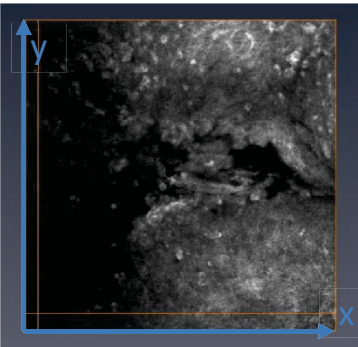

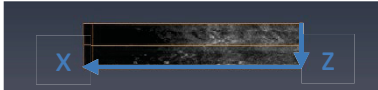
Bei der Aufnahme der Bildreihen lieferte die CLSM einen schwarzen Balken unter dem Bild, auf dem die Patienteninformationen festgehalten wurden. Dieser Balken erwies sich als störend, sodass er mithilfe des Programms Adobe Photoshop entfernt wurde.

Anschließend wurden mit der 3D-Software Amira (FEI Company, Oregon, USA) die gewonnenen CLSM-Bildreihen ausgewertet. Die Bildreihen wurden übereinandergelegt, wobei die Voxelgröße in der Z-Achse verdoppelt wurde. Die Verdopplung war notwendig, da in Scanrichtung (Z-Achse) nur jeder zweite Mikrometer abgelichtet wurde, im Gegensatz zur kontinuierlichen Darstellung in der X- und Y-Achse.

Mithilfe der Achseinstellungen, wurden auffällige Objekte in das Achsfadenkreuz genommen. Dann wurden jeweils Abbildungen aus verschiedenen Achs-Blickwinkeln angefertigt. Diesen Aufnahmen wurde mittels Adobe Photoshop der Rand entfernt.



Tabelle 3: Orientierungshilfe

XY-Schnittebene	YZ-Schnittebene	XZ-Schnittebene
 <p><b>Abb. 3:</b> 3D-Ansicht der XY-Schnittebene</p>	 <p><b>Abb. 4:</b> 3D-Ansicht der YZ-Schnittebene</p>	 <p><b>Abb. 5:</b> 3D-Ansicht der XZ-Schnittebene</p>
 <p><b>Abb. 6:</b> 3D-Ansicht mit Blickrichtung in z-Achse</p>	 <p><b>Abb. 7:</b> 3D-Ansicht mit Blickrichtung in x-Achse</p>	 <p><b>Abb. 8:</b> 3D-Ansicht mit Blickrichtung in y-Achse</p>
 <p><b>Abb. 9:</b> XY-Ebene, Blick in Richtung Z-Achse</p>	 <p><b>Abb. 10:</b> YZ-Ebene, Blick in Richtung X-Achse</p>	 <p><b>Abb. 11:</b> XZ-Ebene, Blick in Richtung Y-Achse</p>

Die Tabelle stellt eine Orientierungshilfe über die Bilddarstellung aus Sicht der jeweiligen Achsen dar.



### III. ERGEBNISSE

---

Zur besseren Veranschaulichung werden im Folgenden Beispielbilder für die einzelnen, entwickelten Identifikationskriterien präsentiert. Die vollständige Darstellung des Bildmaterials je Patient ist auf der Rohdaten-CD zu finden.

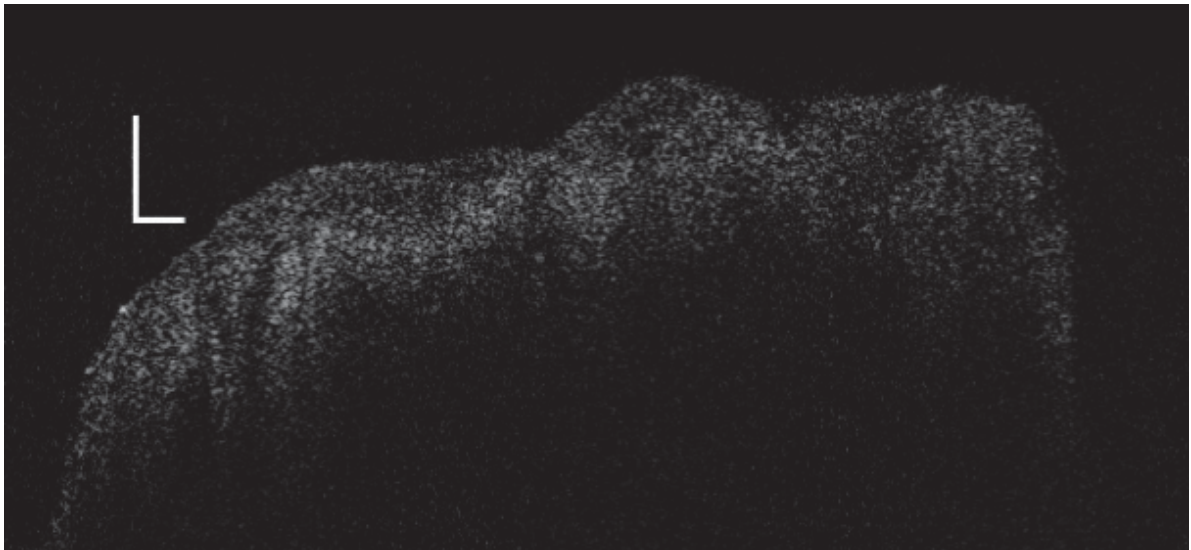
#### 3.1 EPITHELDICKE

---

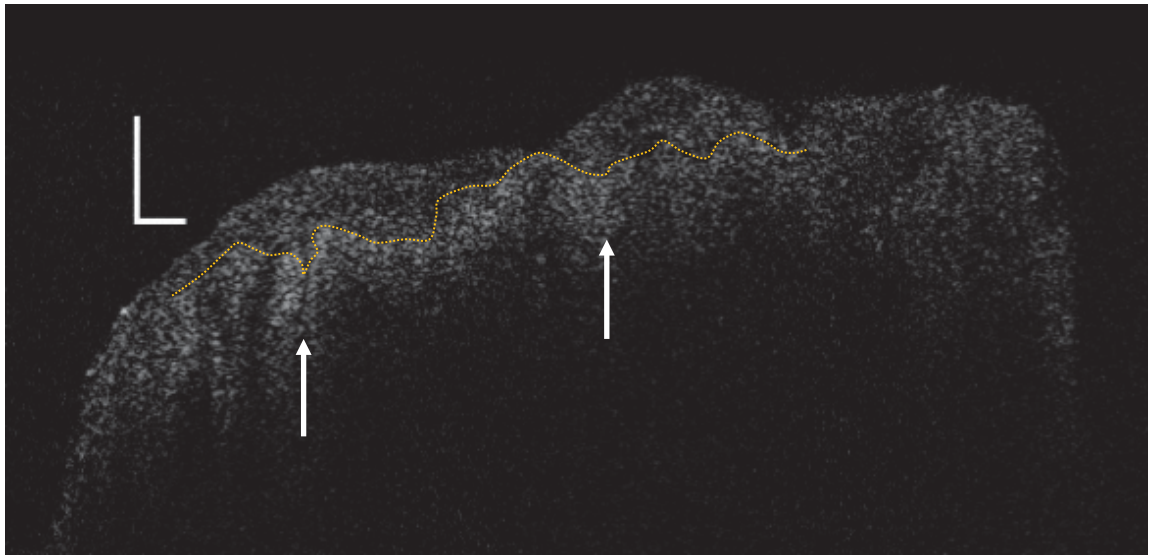
OCT:



**Abb. 12:** Patient Nr. 1, intraoperative OCT, 200µm Skala, verdicktes Epithel



**Abb. 13:** Patient Nr. 1, intraoperative OCT, Bildausschnitt von Abb. 12, 200µm Skala, unterschiedliche Epitheldicke, besonders im linken Bildabschnitt



**Abb. 14:** Patient Nr. 1, intraoperative OCT, markierter Bildausschnitt von Abb. 13, 200µm Skala, unterschiedliche Epitheldicke, Epithelzapfen (Siehe weiße Pfeile)

Im kranialen Anteil dieses intraoperativen OCT-Bildes zeigt sich eine oberste Schicht mit inhomogener Dicke und insgesamt welligem Charakter (Vgl. gelb markierten Übergang Epithel-Stroma). Dabei handelt es sich am ehesten um das IP-Epithel mit sichtbarer Dickenvarianz und angedeuteten Epithelzapfen (Siehe weiße Pfeile). Die gelbe Linie zeigt den Verlauf der BM.

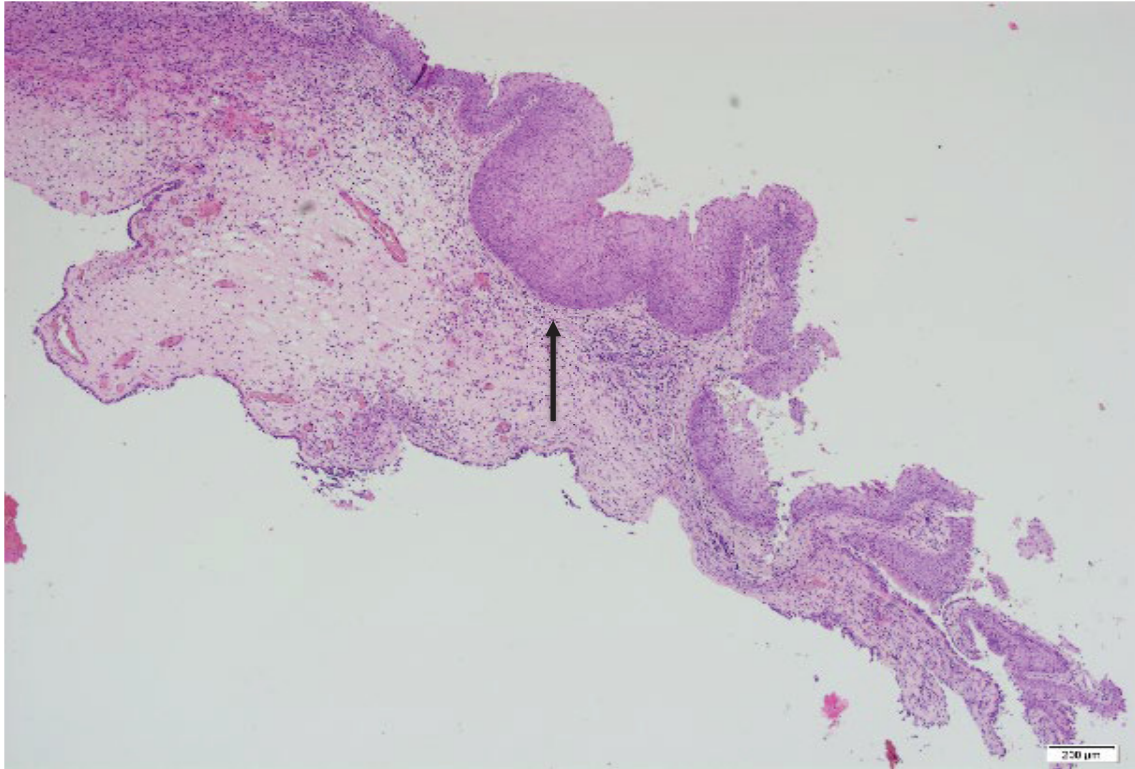


Abb. 15: Patient Nr. 1, HE, x40, 200µm Skala, unterschiedliche Epitheldicken nebeneinander, Epithelzapfen (Siehe schwarzer Pfeil)

Diese mikroskopische Aufnahme verdeutlicht die ausgeprägte Epitheldickenvarianz und die Epithelzapfen der IP (Siehe schwarzer Pfeil). Das Stroma zeigt sich teils zellreich, teils aufgelockert, durchsetzt mit Gefäßen, eindeutige PR zeigen sich nicht.

CLSM:

Die Epitheldicke wurde mit der CLSM nicht gemessen.

### 3.2 EPITHELARCHITEKTUR

OCT:

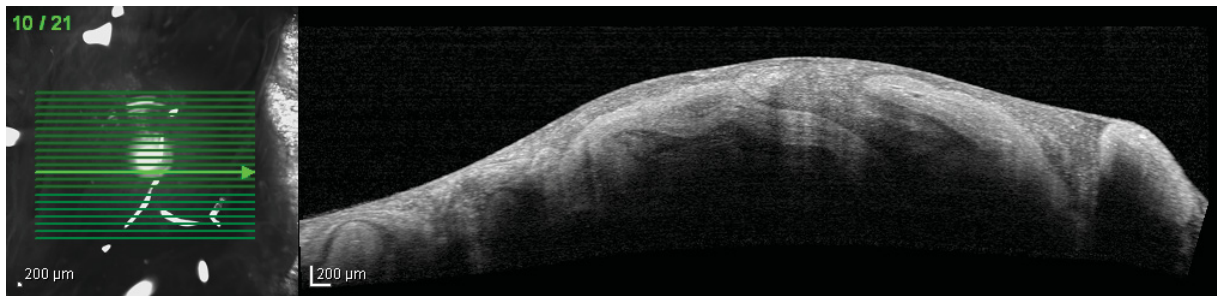


Abb. 16: Patient Nr. 3, OCT, 200µm Skala, welliges Epithel, Krypte



Abb. 17: Patient Nr. 3, OCT, 200µm Skala, markierte Abb. 16, welliges Epithel, Krypte (Siehe weiße Pfeile)

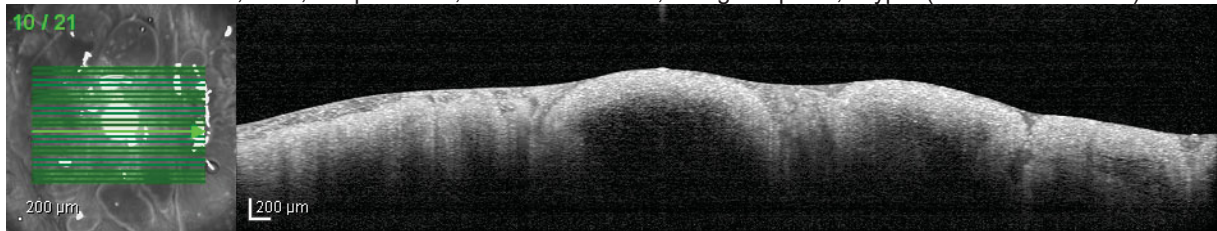


Abb. 18: Patient Nr. 3, OCT, 200µm Skala, welliges und verdicktes Epithel, Krypte, stromale PR

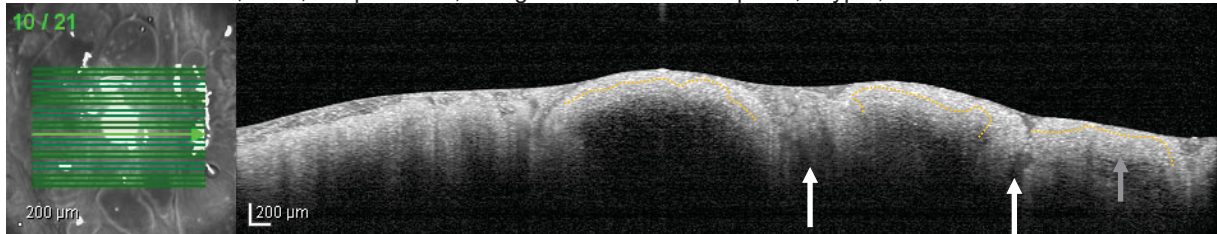


Abb. 19: Patient Nr. 3, OCT, 200µm Skala, markierte Abb. 18, welliges und verdicktes Epithel, Krypten (Siehe weißer Pfeil), stromale PR (Siehe grauer Pfeil)

In diesen OCT-Aufnahmen präsentiert sich die typisch wellige Epithelarchitektur der IP mit ausgeprägten epithelialen Einziehungen samt Lumen, im Sinne von Krypten (Siehe weiße Pfeile). In der ersten OCT-Aufnahme ist ein dünnes Epithel nachweisbar. Bei der Analyse des zweiten OCT-Bildes, auch im Vergleich zwischen den beiden Bildern desselben Patienten, zeigt sich eine - IP-typische - inhomogene Epitheldicke.

Durch das prominente Epithel ist nur eine geringe Darstellung des Stromas gegeben. Es zeigen sich dennoch einige, kleinste stromale PR (Siehe grauer Pfeil in Abb. 19, unter 100µm im Längsachsdiameter).



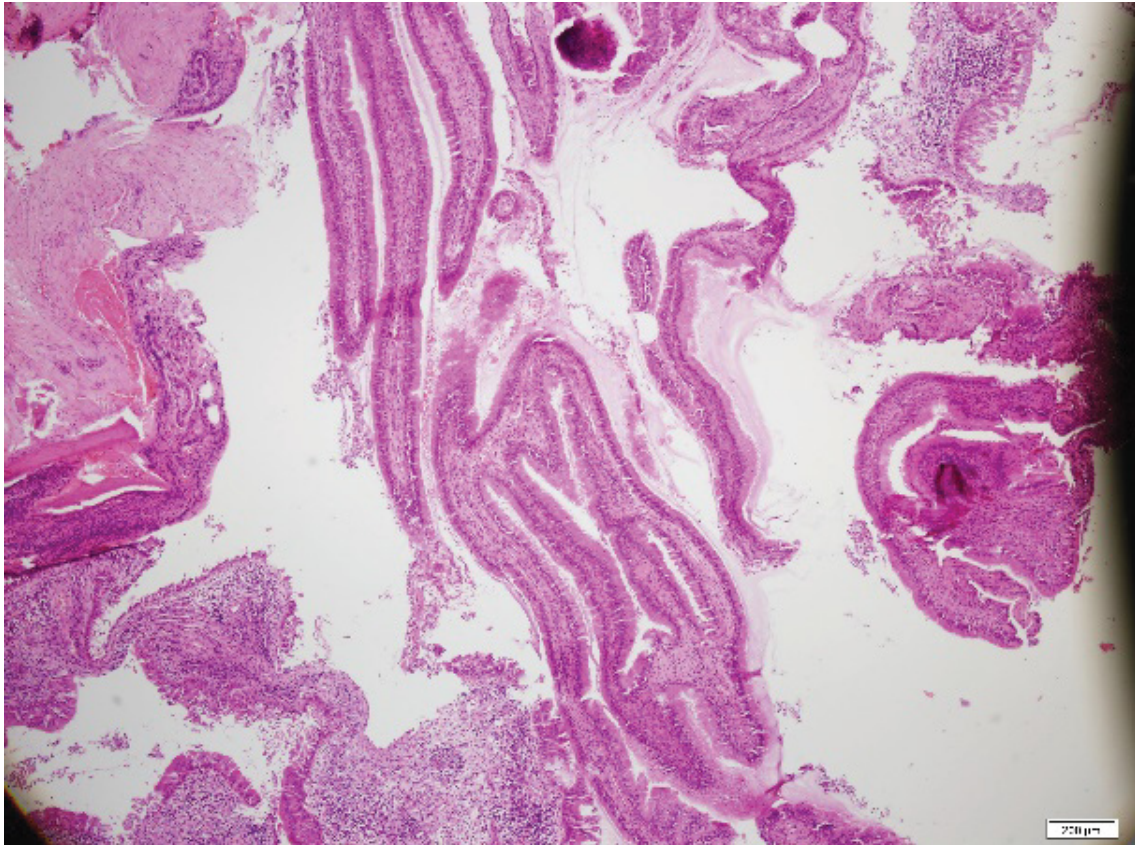


Abb. 20: Patient Nr. 3, HE, x40, 200µm Skala, unregelmäßige Epithelarchitektur, multiple Epithelzapfen, dünnes Epithel

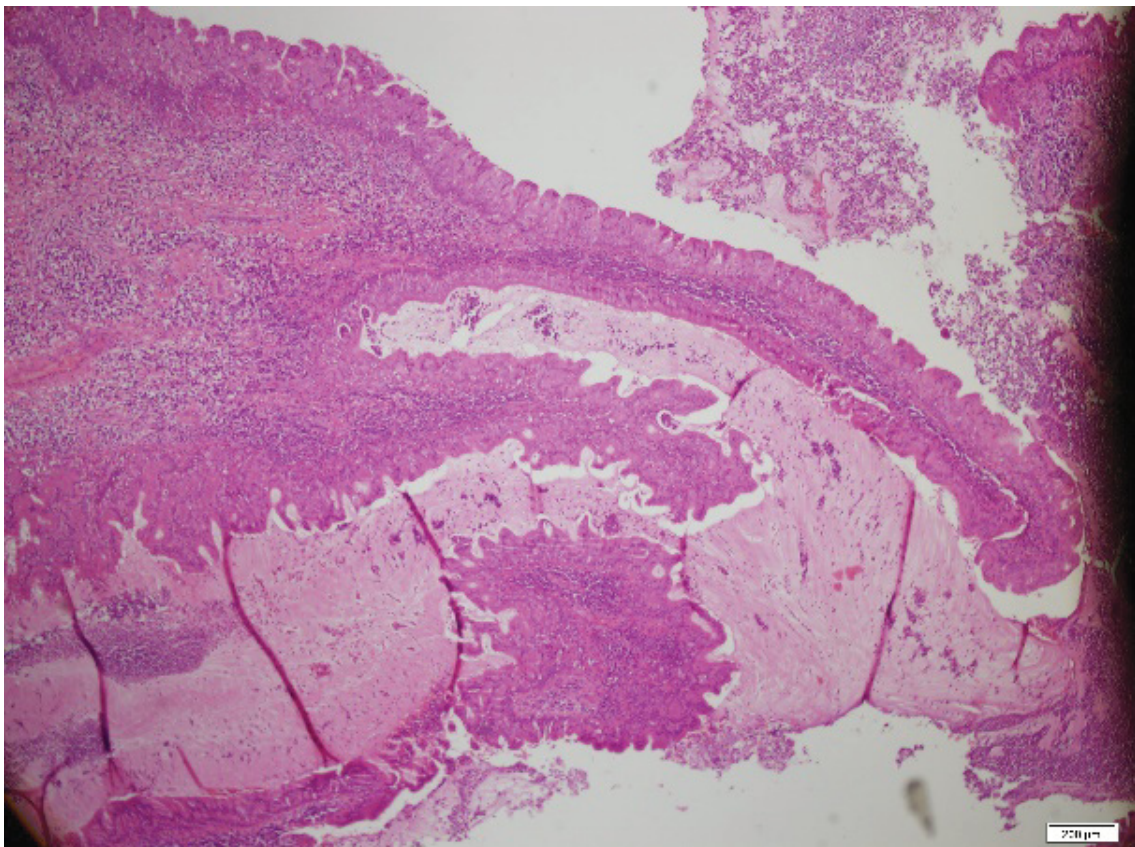


Abb. 21: Patient Nr. 3, HE, x40, 200µm Skala, einzelner Epithelzapfen



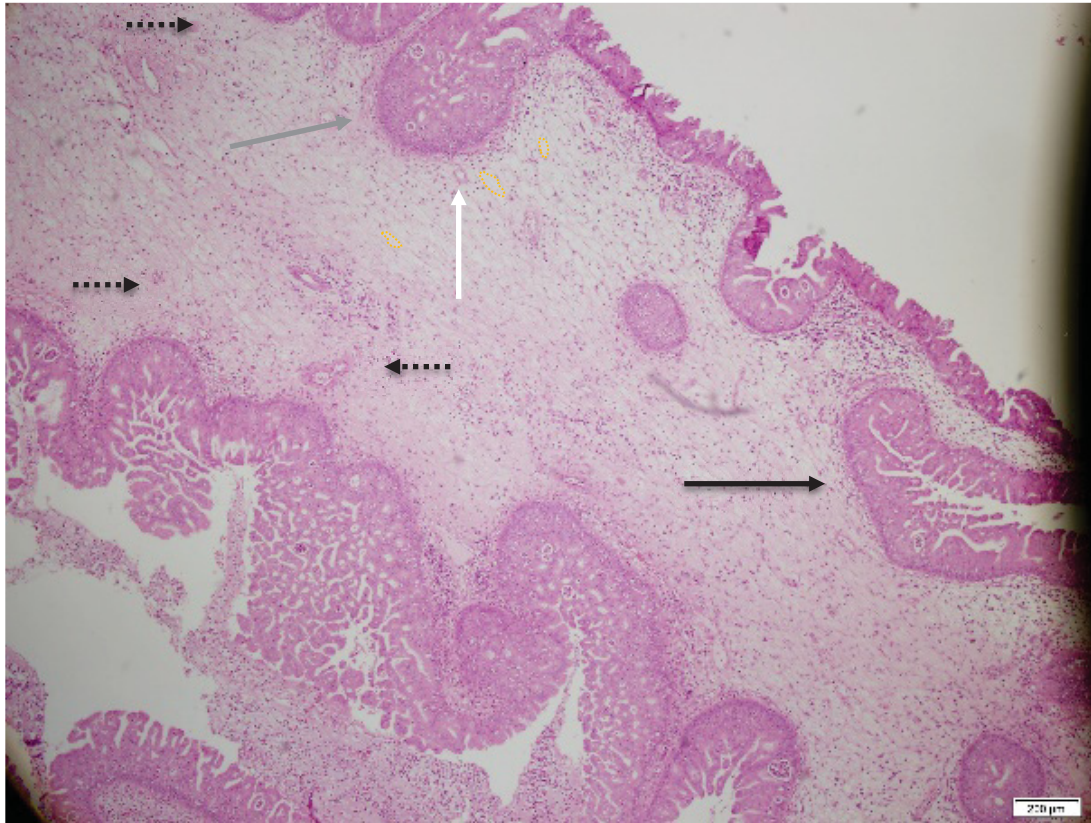


Abb. 22: Patient Nr. 3, HE, x40, 200µm Skala, invasives Epithel (Siehe grauer Pfeil), Krypten (Siehe schwarzer Pfeil), kleines Gefäß kurz unterhalb der BM (Siehe weißer Pfeil), aufgelockertes Stroma mit stromalen PR (gelb markiert), intraepitheliale Einschlüsse (Siehe schwarz gestrichelte Pfeile)

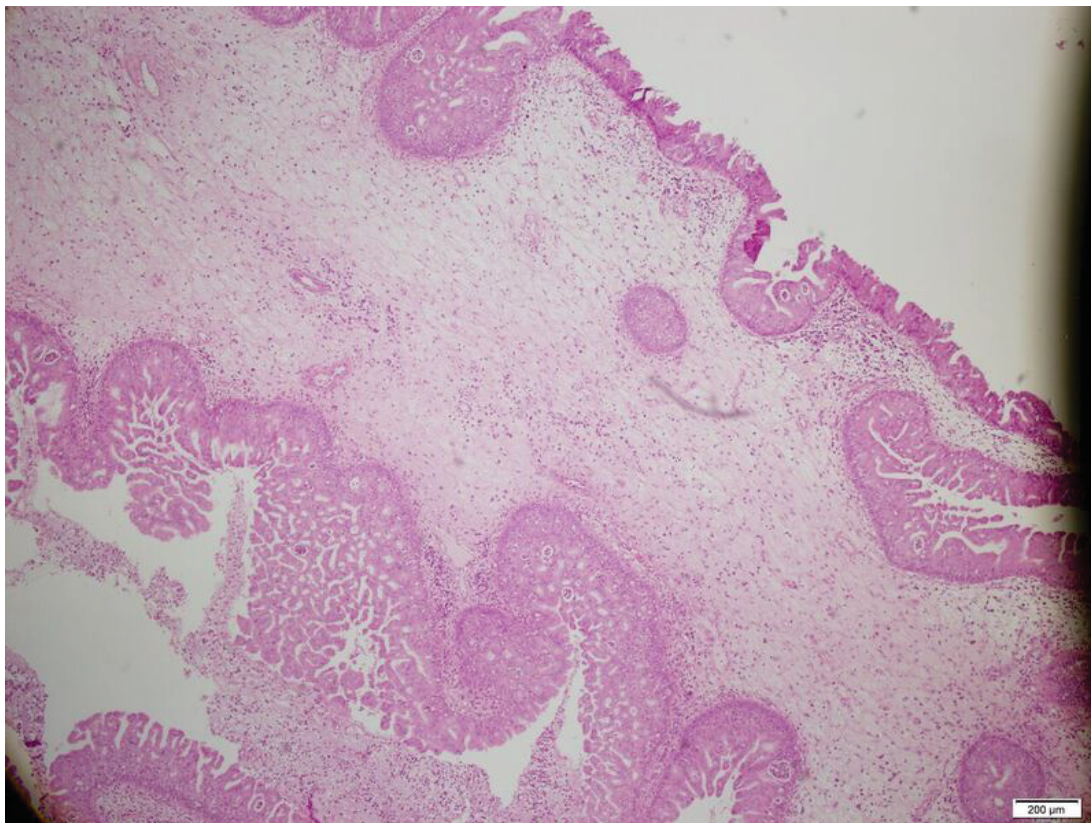


Abb. 23: Patient Nr. 3, HE, x40, 200µm Skala, Original von Abb. 22

Diese mikroskopischen Aufnahmen zeigen teilweise IP-typisch eine wellige, unregelmäßige Epithelarchitektur bei invasivem Wachstumscharakter und unterschiedlicher Epitheldicke sowie Epithelzapfen (Siehe grauer Pfeil), Krypten (Siehe schwarzer Pfeil), vereinzelt Gefäße (Siehe weißer Pfeil) und intraepitheliale Einschlüsse (Siehe schwarz gestrichelte Pfeile).

Des Weiteren präsentiert sich ein stark variables Stroma mit teils zellreichen Anteilen (Siehe Abb. 21) oder aufgelockert mit vereinzelt PR (Siehe Abb. 22, gelb markiert, unter 100µm im Längsachsdiameter).

CLSM:

Zur Beurteilung der Epithelarchitektur ist die vollständige Darstellung des Epithels selbst notwendig. Dieses wurde in dieser Arbeit mit der CLSM nicht erfasst, entsprechend kann auch keine Aussage über die Epithelarchitektur durch die CLSM erfolgen.

### 3.3 KRYPTEN ODER EPITHELZAPFEN

OCT:

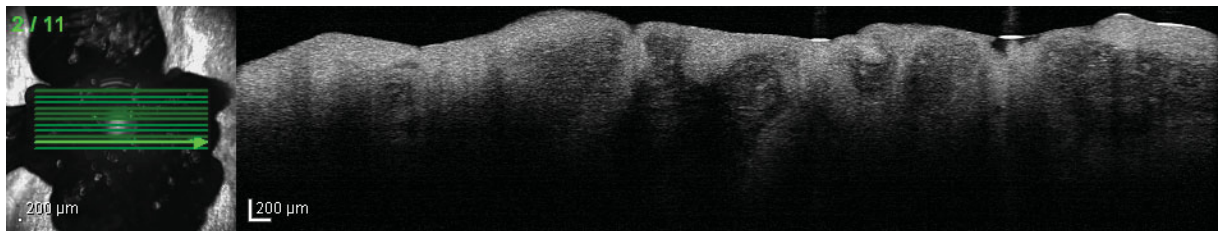


Abb. 24: Patient Nr. 2, OCT, 200µm Skala, Unterschiedliche Epitheldicken, wellige Epithelarchitektur, Krypten, stromale PR

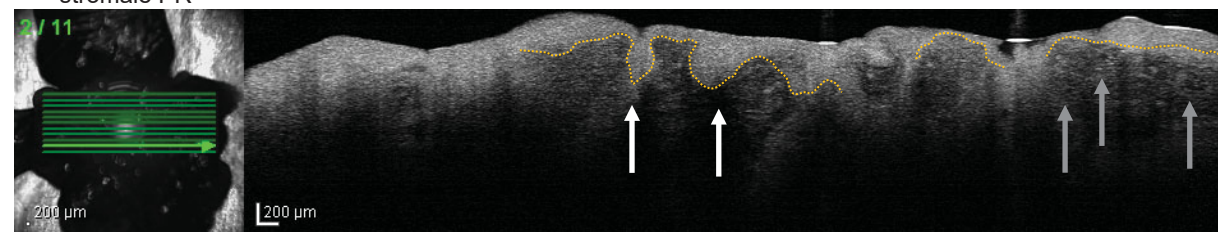


Abb. 25: Patient Nr. 2, OCT, 200µm Skala, markierte Abb. 24, Unterschiedliche Epitheldicken, wellige Epithelarchitektur (Siehe weiße Pfeile), Krypten, stromale PR (Siehe graue Pfeile)

In den ex-vivo OCT-Aufnahmen (Abb. 24 und Abb. 25) zeigt sich eine oberste, optisch homogen-dichte Schicht mit stark variabler Dicke und insgesamt welligem Charakter (vergleiche die Gewebeanteile kranial und kaudal der markierten Linie). In der Bildmitte der Abb. 25 ist die Schichtdickenvariabilität in ihrem Maximum wahrzunehmen. Die erste, oberste Schicht wird als Epithel gewertet. Die markierten Strukturen (Siehe weiße Pfeile) verdeutlichen die invertierte Wachstumsrichtung des IP, im Sinne von Epithelzapfen.

Das abgebildete Stroma wirkt aufgelockert. Als Besonderheit sind viele kleine, teils rundlich konfigurierte, optisch wenig dichte, stromale Strukturen unter 100µm Längsachsdiameter im Sinne von PR, zu erkennen (Siehe graue Pfeile).



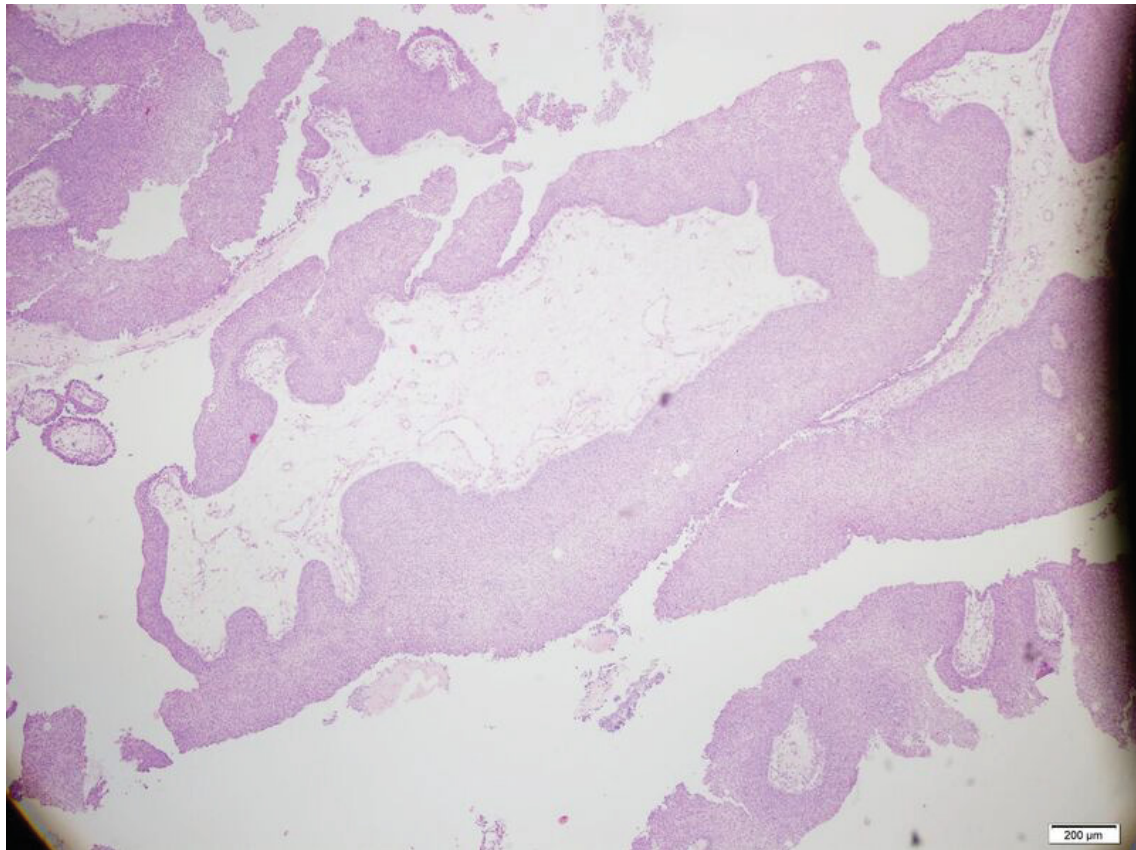


Abb. 26: Patient Nr. 2, HE, x 40, 200µm Skala, verdicktes Epithel, Krypten mit Lumen, stromale PR

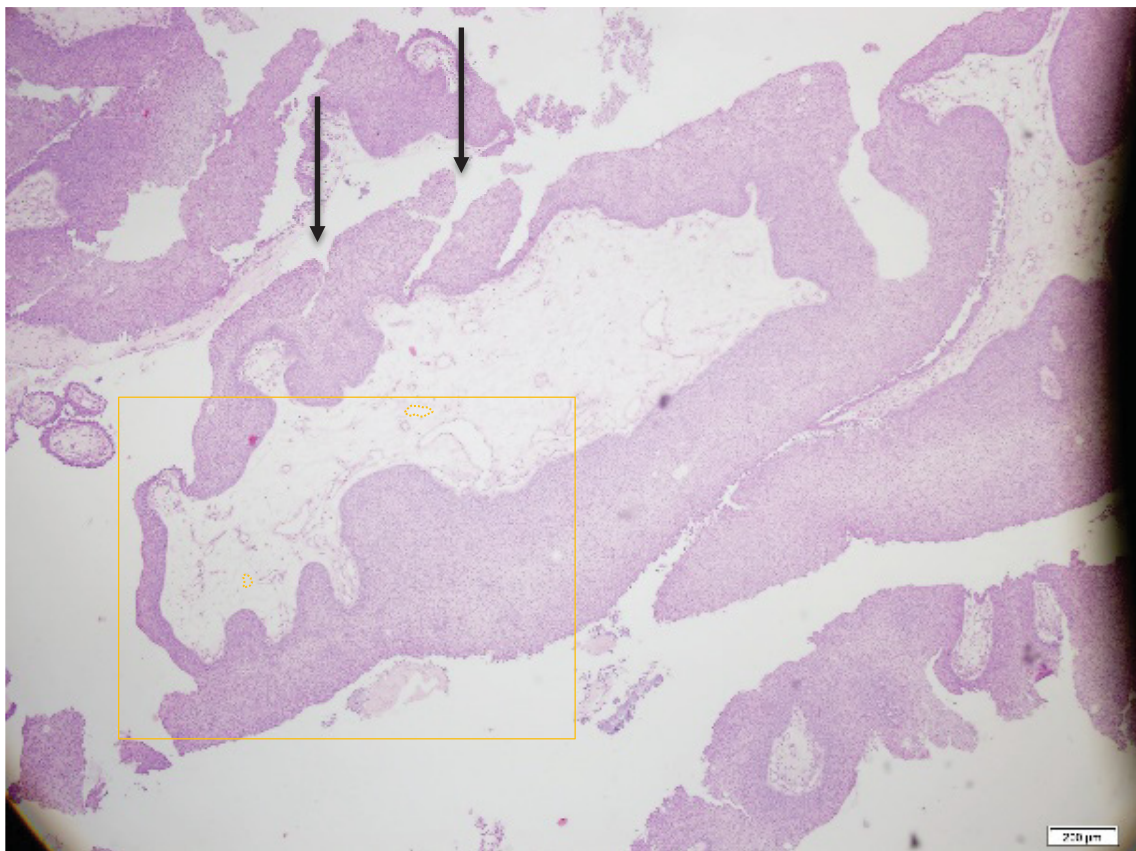


Abb. 27: Patient Nr. 2, HE, x 40, 200µm Skala, markierte Abb. 26, verdicktes Epithel, Krypten mit Lumen (Siehe schwarze Pfeile), stromale PR (gelb markiert)



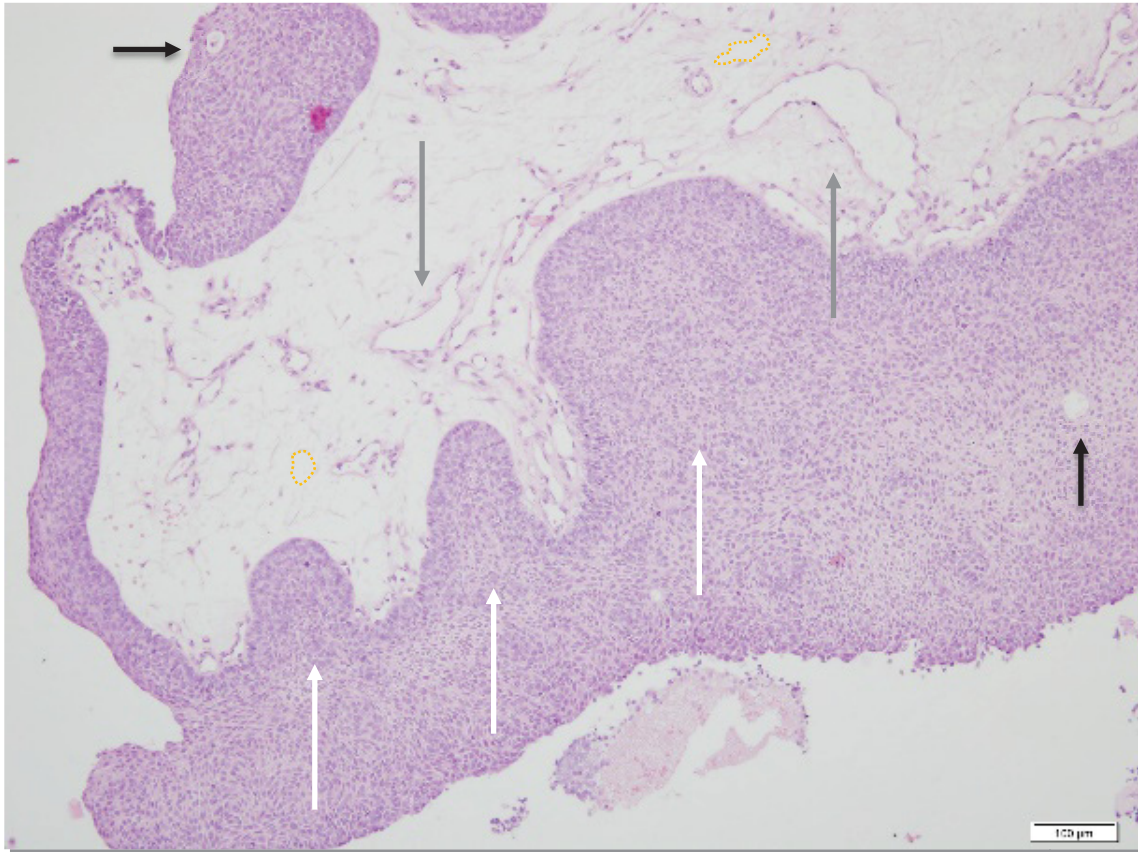


Abb. 28: Patient Nr. 2, HE, x100, 100µm Skala, Ausschnitt aus Abb. 27, verdicktes Epithel und Krypten (Siehe weiße Pfeile), größere Gefäßanschnitte (Siehe graue Pfeile), stromale PR (gelb markiert), intraepitheliale Einschlüsse (Siehe schwarze Pfeile)

Die hier abgebildeten mikroskopischen Photos zeigen deutlich die histologischen Eigenschaften der IP. So sind eine stark variable Epitheldicke, eine invertierte Wachstumsrichtung des Epithels (Siehe weiße Pfeile Abb. 28), Epithelzapfen mit Lumen (Siehe schwarze Pfeile Abb. 27), eine wellige Epithelarchitektur und intraepitheliale Einschlüsse zu verzeichnen (Siehe schwarze Pfeile Abb. 28).

Das Stroma zeigt sich als zellarmes, ödematös aufgelockertes und homogen organisiertes Gewebe, durchzogen von vielen, größeren Gefäßen (Siehe graue Pfeile Abb. 28). Als Besonderheit fallen die kleinen, mit Bindegewebe umrandeten, zellfreien Räume im Stroma auf, die stromalen PR (gelb markiert, unter 100µm im Längsachsdiameter).

CLSM:

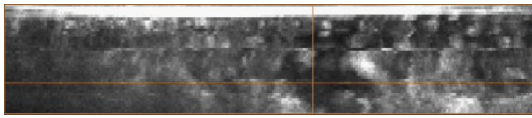


Abb. 29: Patient Nr. 5, CLSM, Seitansicht XZ-Schnittebene Nr. 308, fokussierte Krypte, Skala der Aufsicht übertragbar

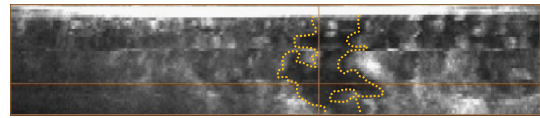


Abb. 30: Patient Nr. 5, CLSM, Seitansicht XZ-Schnittebene Nr. 308, fokussierte, markierte Krypte, Skala der Aufsicht übertragbar

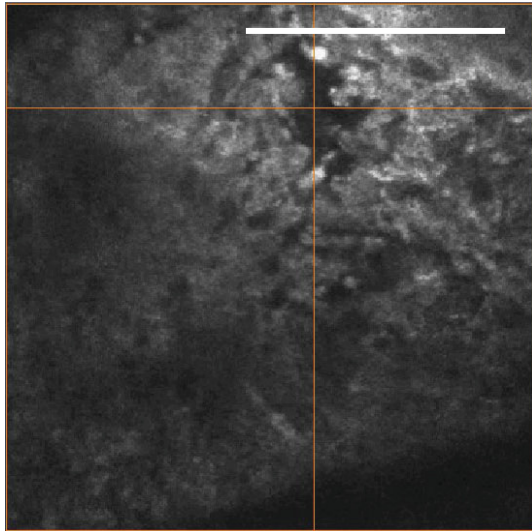


Abb. 31: Patient Nr. 5, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 28, fokussierte Krypte

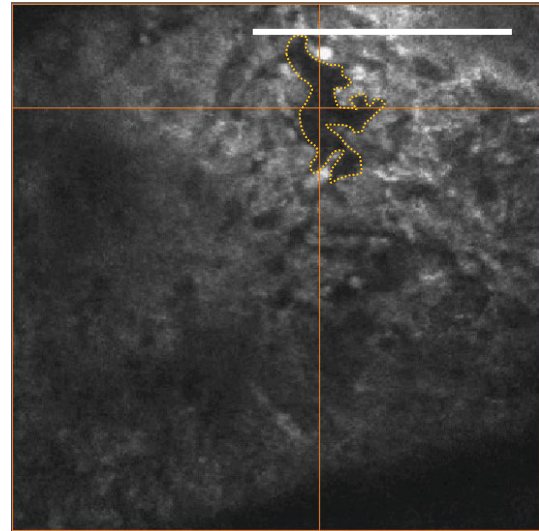


Abb. 32: Patient Nr. 5, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 28, fokussierte, markierte Krypte

Diese ex-vivo-CLSM-Bildreihe zeigt eine größere, scharf abgrenzbare, zellulär ummauerte, optisch wenig dichte Struktur (Siehe gelbe Markierung), die einen Kontakt zur Gewebeoberfläche aufweist und deren oberflächenfernes Ende außerhalb der CLSM-Aufnahme liegt. Es handelt sich vermutlich um eine Krypte mit einer Eindringtiefe von über 80µm.

### 3.4 KRYPTENLUMEN

OCT:

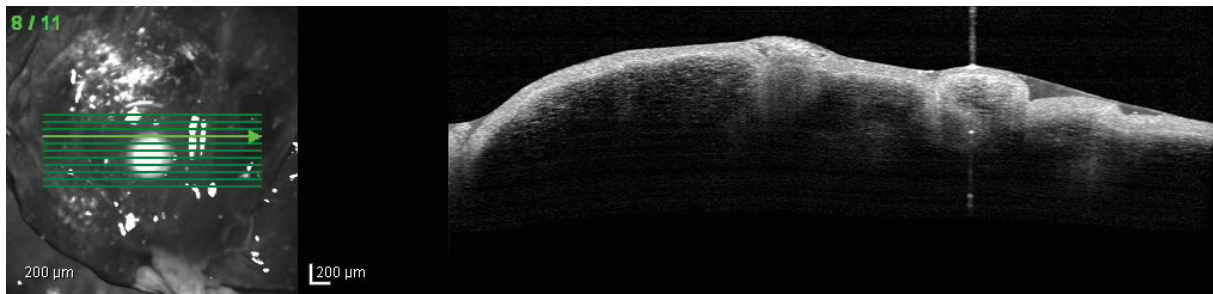


Abb. 33: Patient Nr. 5, OCT, 200µm Skala, welliges Epithel, Krypte, stromale PR

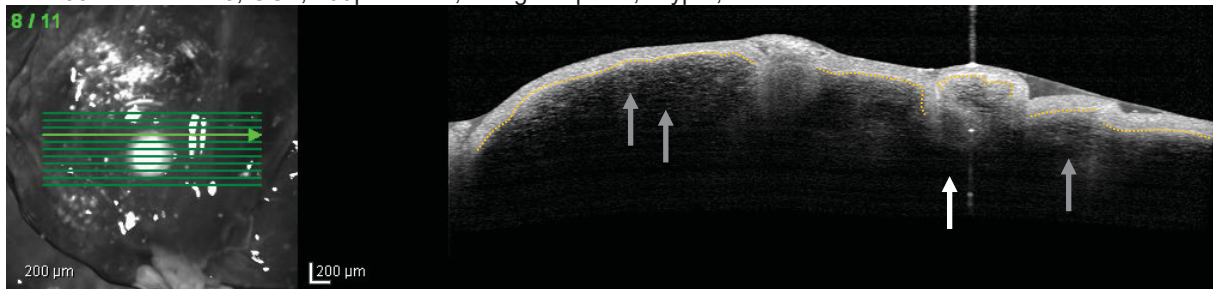


Abb. 34: Patient Nr. 5, OCT, 200µm Skala, gelb markierte BM, welliges Epithel, Krypte (Siehe weißer Pfeil), stromale PR (Siehe graue Pfeile)



Abb. 35: Patient Nr. 5, OCT, 200µm Skala, wellige Epithelarchitektur, Krypte, Gefäßanschnitt, stromale PR

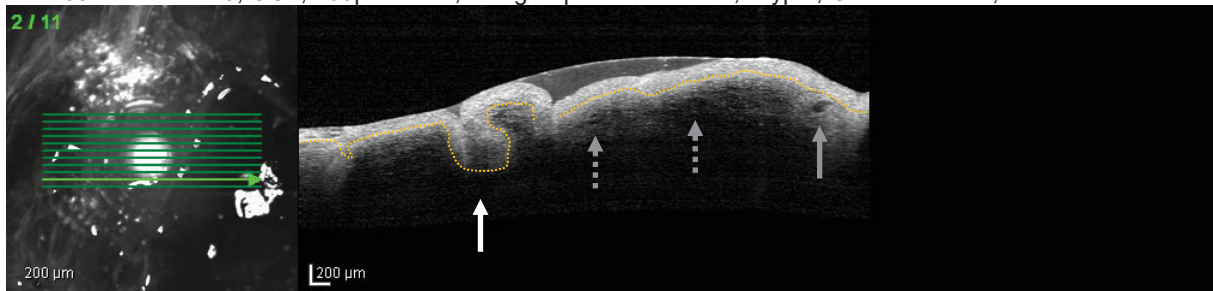


Abb. 36: Patient Nr. 5, OCT, 200µm Skala, gelb markierte BM, wellige Epithelarchitektur, Krypte (Siehe weißer Pfeil), Gefäßanschnitt (Siehe grauer durchgezogener Pfeil), stromale PR (Siehe graue gestrichelte Pfeile)

Diese ex-vivo OCT-Aufnahmen zeigen einen scharfen Kontrast zwischen Epithel und Stroma und vereinfachen somit die Wahrnehmung der IP-typischen, welligen Epithelarchitektur (Vergleiche gelbe Markierungen). In beiden Aufnahmen sind epitheliale Einbuchtungen, im Sinne von Krypten samt deren Lumen, zu finden (Siehe weißer Pfeil). Die Epitheldicke erscheint, entgegen der mikroskopischen Eigenschaften der IP, als homogen.

Die mit einem durchgehend grauen Pfeil markierte Struktur, zeigt sich scharf abgrenzbar, zentral optisch wenig dicht und randständig mit optisch dichterem Material umrahmt, sie wurde als Gefäßanschnitt gewertet.



Als Besonderheit sind im gesamten abgebildeten Stroma kleinere, scharf abgrenzbare, optisch wenig dichte Strukturen zu sehen, die als multiple, kleine PR gewertet werden (Siehe graue gestrichelte Pfeile, unter 100µm im Längsachsdiameter).

CLSM:

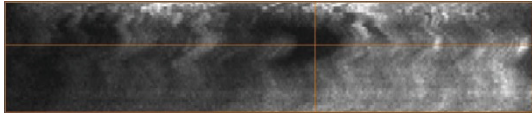


Abb. 37: Patient Nr. 1, CLSM, Seitansicht YZ-Schnittebene Nr. 225, die horizontale, gelbe Linie entspricht der Schnittgeraden mit der XY-Ebene Nr. 15, fokussiertes Kryptenlumen, Skala der Aufsicht übertragbar

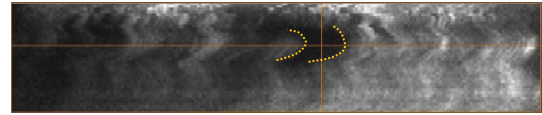


Abb. 38: Patient Nr. 1, CLSM, Seitansicht YZ-Schnittebene Nr. 225, die horizontale, gelbe Linie entspricht der Schnittgeraden mit der XY-Ebene Nr. 15, markiertes, fokussiertes Kryptenlumen, Skala der Aufsicht übertragbar

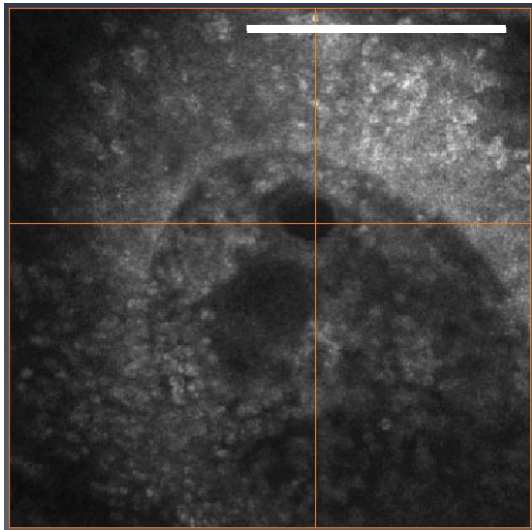


Abb. 39: Patient Nr. 1, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 15, die horizontale, gelbe Linie entspricht der Schnittgeraden mit der YZ-Ebene Nr. 225, fokussiertes Kryptenlumen

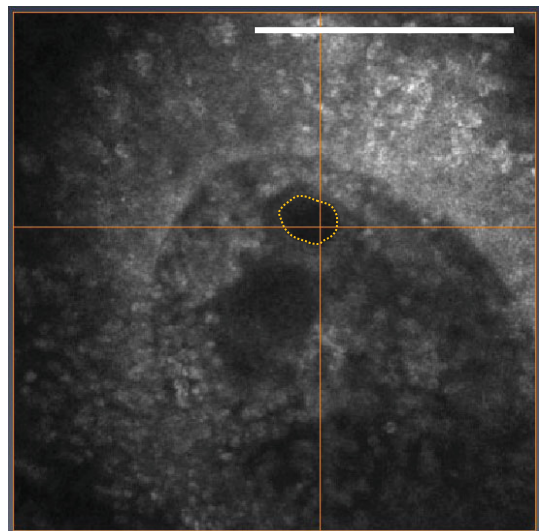


Abb. 40: Patient Nr. 1, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 15, die horizontale, gelbe Linie entspricht der Schnittgeraden mit der YZ-Ebene Nr. 22, markiertes, fokussiertes Kryptenlumen

Diese CLSM-Bilder des Patienten Nr. 1 zeigen in der Aufsicht, sowie in der Seitansicht eine optisch weniger dichte, scharf abgrenzbare, längliche, rohrförmige, sich zuspitzende Figur (gelbe Markierung). Dabei handelt es sich am ehesten um ein Kryptenlumen.

In der Seitansicht wird neben der Figur auch der Effekt der manuellen Probenfixierung deutlich: die Bildaufnahme mit mikroskopisch kleiner Translation, die zu einer verzerrten Seitansicht führt (gekrümmte gelbe Linien in Abb. 38), wahrscheinlich ohne Translation annähernd geradlinig).

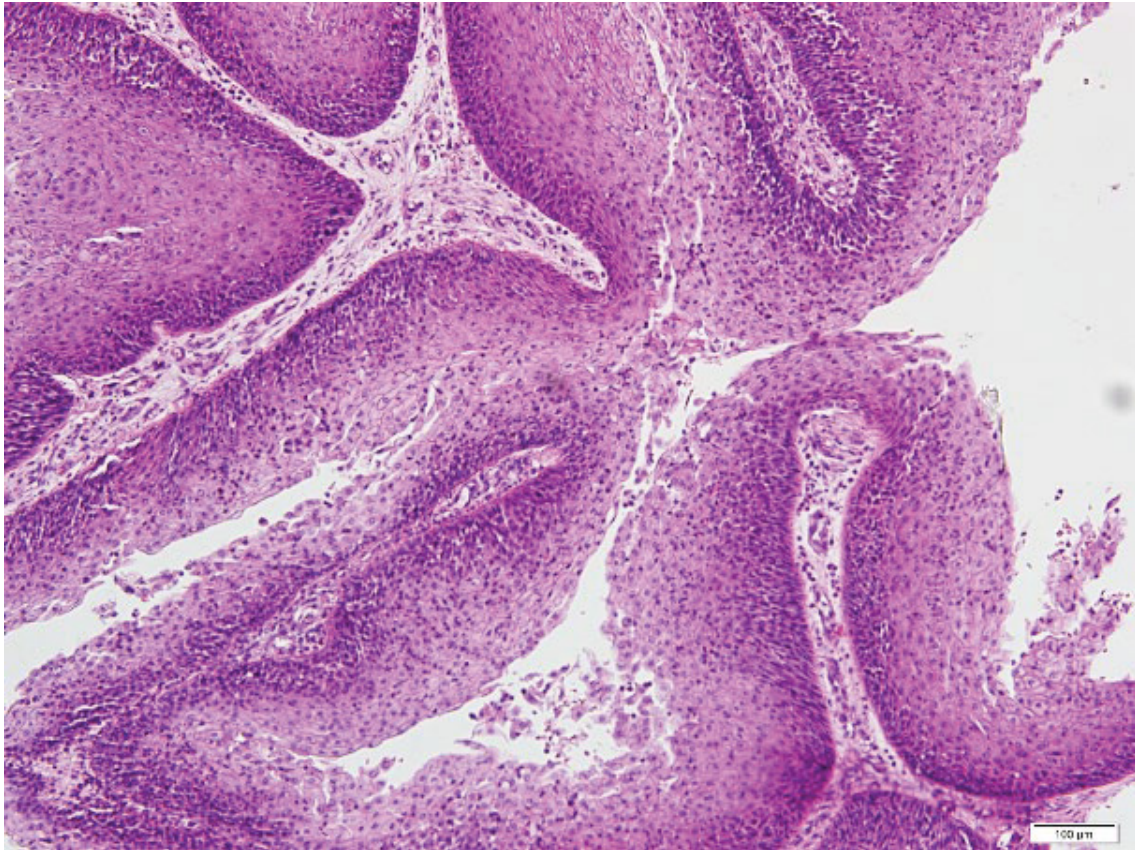


Abb. 41: Patient Nr. 1, HE, x100, 100µm Skala, multiple Krypten/Epithelfalten und deren Lumen, vakuolierte Zellen lumenwärts

Diese mikroskopische Aufnahme verdeutlicht die wellige Epithelarchitektur und die Krypten samt Lumen.

### 3.5 PSEUDOZYSTISCHE RÄUME

OCT:



Abb. 42: Patient Nr. 7, OCT, 200µm Skala, flaches Epithel, aufgelockertes Stroma

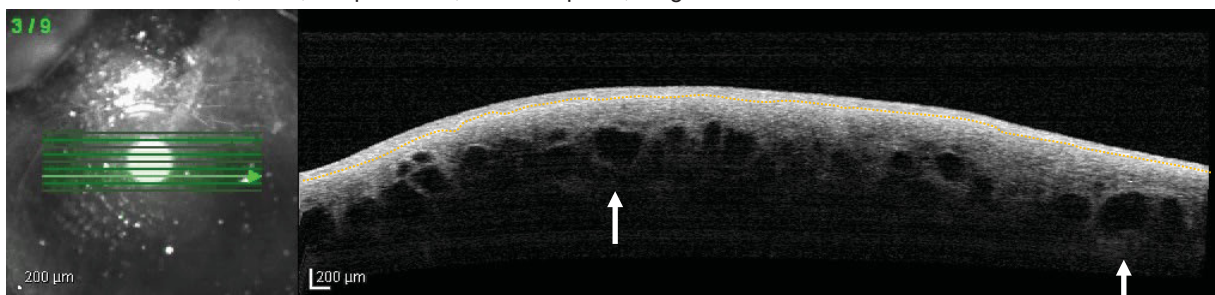


Abb. 43: Patient Nr. 7, OCT, 200µm Skala, gelb markierte BM, flaches Epithel, aufgelockertes Stroma mit prominenten PR (Siehe weiße Pfeile)



Die OCT-Aufnahmen zeigen ein homogen flaches Epithel. Die darunterliegende BM stellt sich als optisch dichte, scharf gestrichene Linie (Vergleiche gelbe Markierung) dar.

Als Besonderheit zeigt sich ein Stroma, welches von unzähligen, prominenten PR unterschiedlicher Größe durchsetzt ist (Siehe weiße Pfeile, über 200µm Längsachsdiameter).

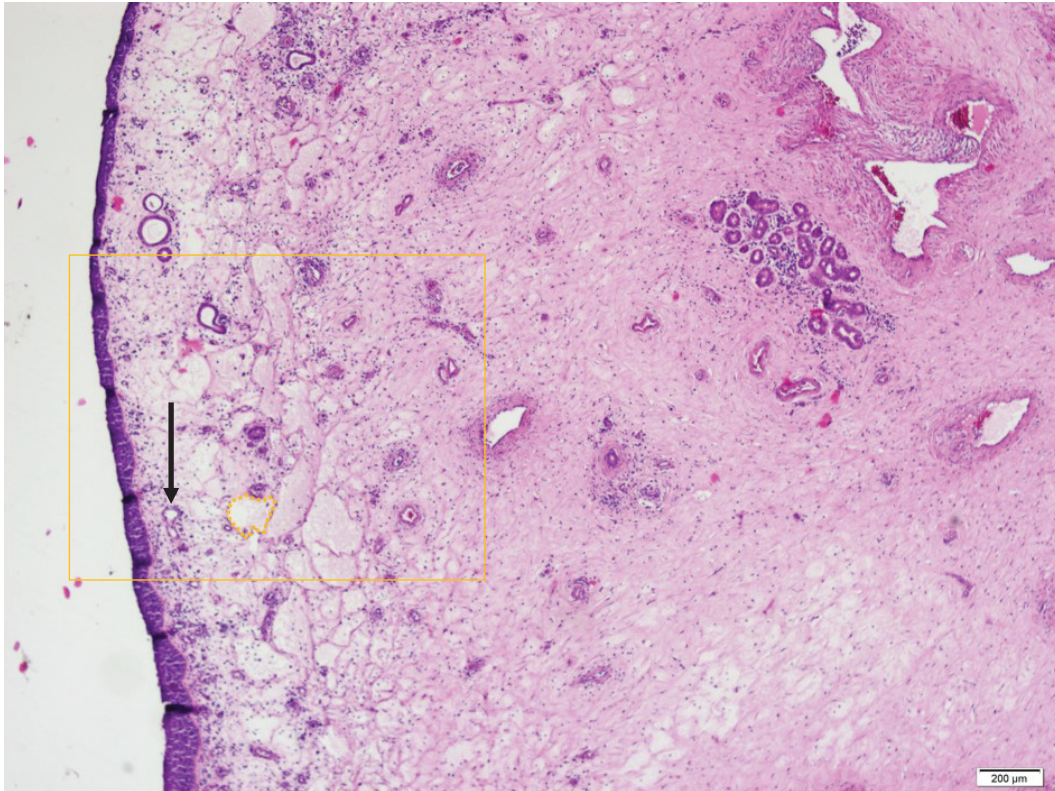


Abb. 44: Patient Nr. 7, HE, x40, 200µm Skala, flaches Epithel, homogene Epithelarchitektur, aufgelockertes Stroma mit markiertem PR, Gefäß (Siehe schwarzer Pfeil)



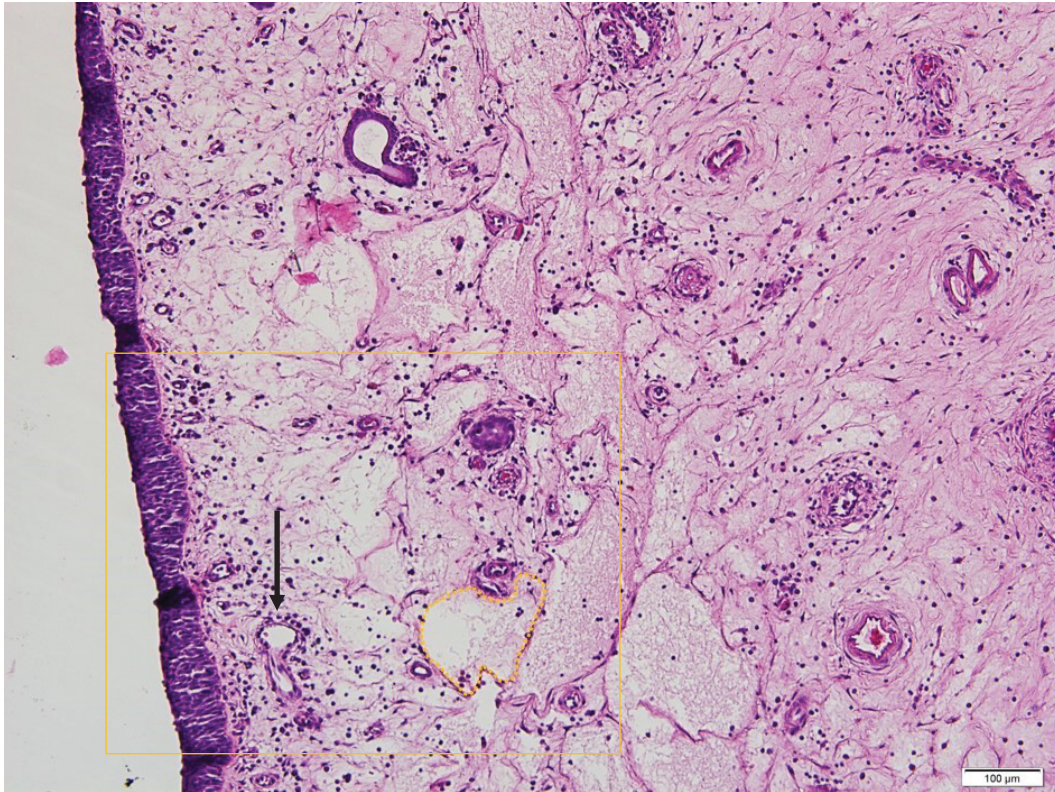


Abb. 45: Patient Nr. 7, HE, x100, 100µm Skala, Ausschnitt aus , flaches Epithel, homogene Epithelarchitektur, aufgelockertes Stroma mit gelb markiertem PR, Gefäß (Siehe schwarzer Pfeil)

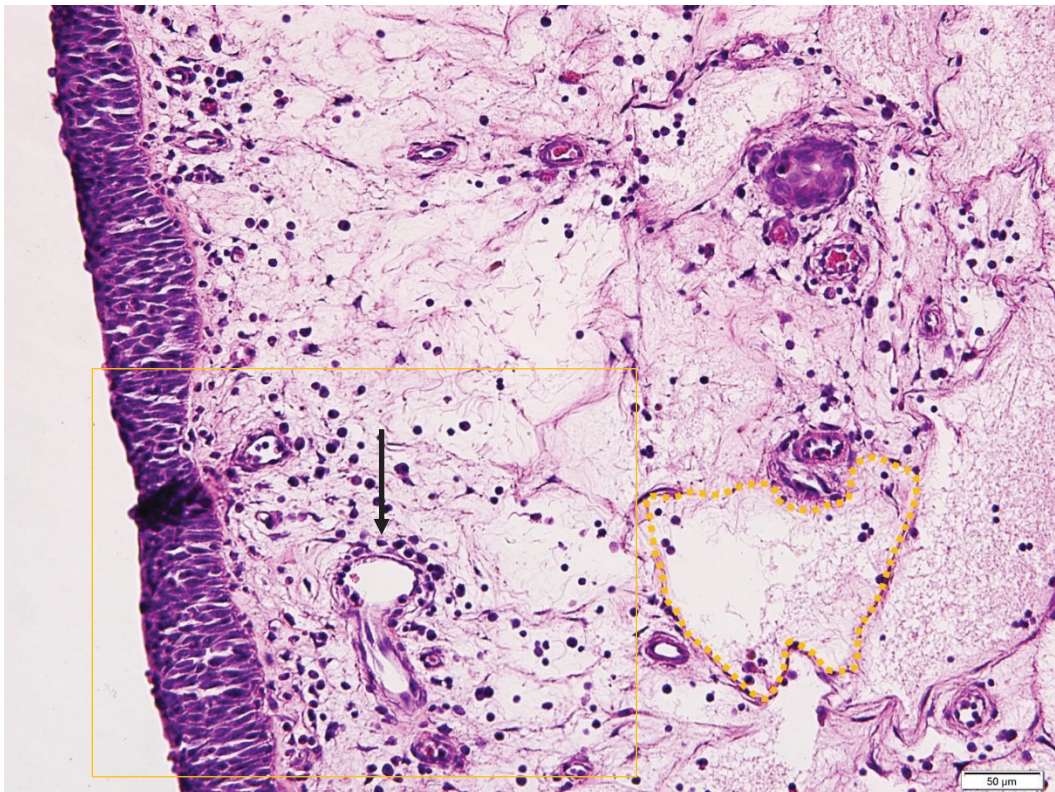


Abb. 46: Patient Nr. 7, HE, x200, 50µm Skala, Ausschnitt aus , flaches Epithel, homogene Epithelarchitektur, aufgelockertes Stroma mit markiertem PR, Gefäß (Siehe schwarzer Pfeil)



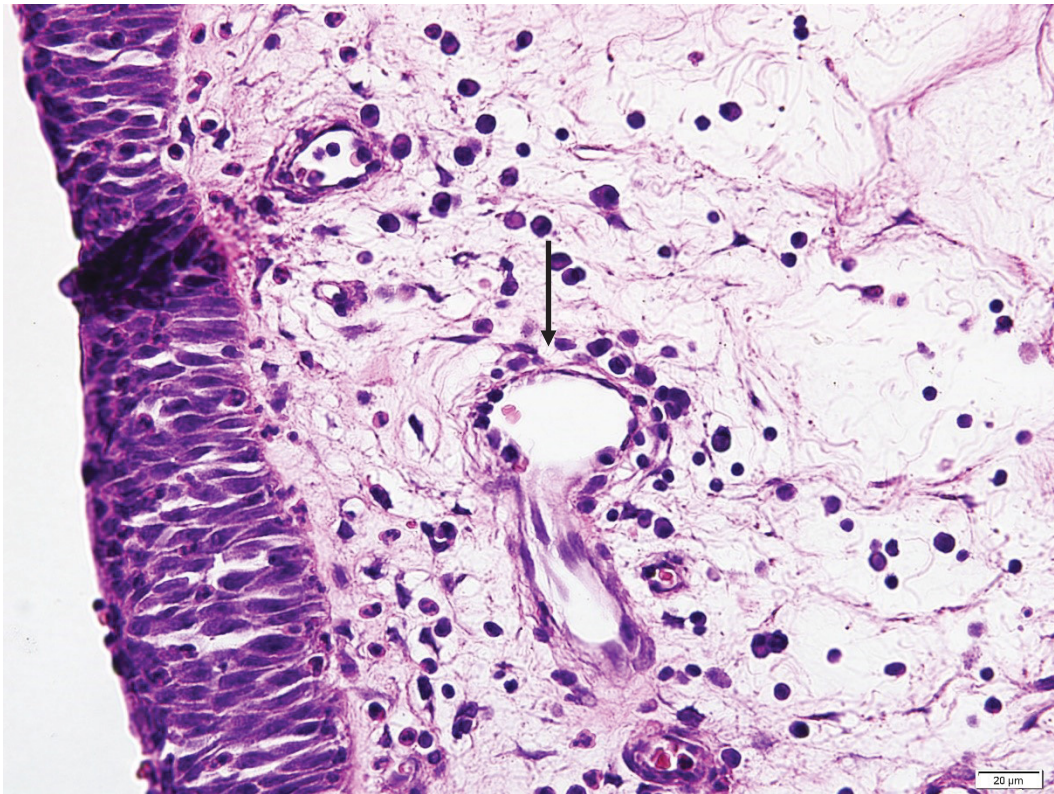


Abb. 47: Patient Nr. 7, HE, x400, 20µm Skala, Ausschnitt aus , flaches Epithel, homogene Epithelarchitektur, aufgelockertes Stroma, Gefäß (Siehe schwarzer Pfeil)

Diese mikroskopische Aufnahmereihe stellt progrediente Vergrößerungen ein und derselben Region dar. Es zeigt sich ein glattes und homogen strukturiertes Epithel. Subepitheliale Gefäße sind sichtbar (Siehe schwarzer Pfeil).

Als Besonderheit imponiert das NP-typische, aufgelockerte Stroma mit seiner Vielzahl an prominenten, stromalen PR (gelb markiert, teilweise über 200µm Längsachsdiameter).

#### CLSM:

Das Stroma wurde in dieser Arbeit mit der CLSM bei einer verwendeten Eindringtiefe von 80µm nicht untersucht, demnach auch nicht die PR.



### 3.6 VERHORNUNG

OCT:

Mittels OCT konnte in dieser Untersuchungsreihe kein Bild der hyperreflexiven Oberfläche als Hinweis auf eine Verhornung entdeckt werden.

CLSM:

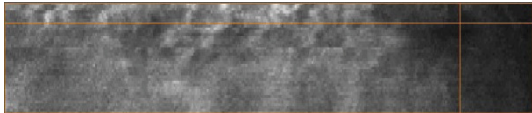


Abb. 48: Patient Nr. 4, CLSM, Seitansicht XZ-Schnittebene Nr. 144, fokussierte Krypte, Skala der Aufsicht übertragbar

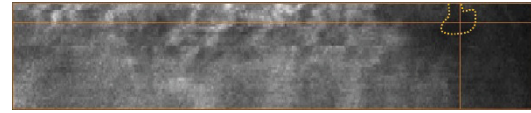


Abb. 49: Patient Nr. 4, CLSM, Seitansicht XZ-Schnittebene Nr. 144, fokussierte, markierte Krypte, Skala der Aufsicht übertragbar

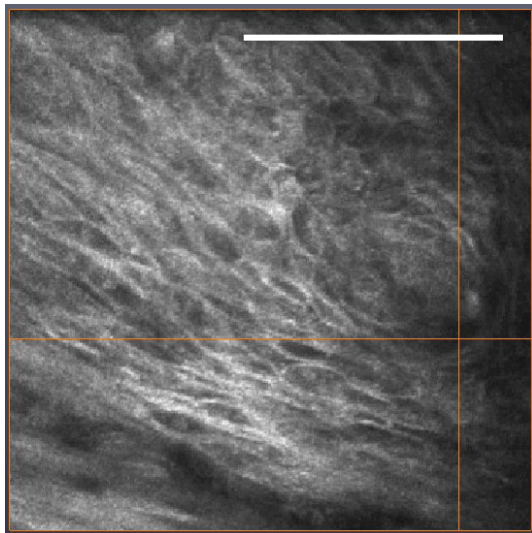


Abb. 50: Patient Nr. 4, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 6, fokussierte Krypte, umgeben von zellkernfreien Zellen

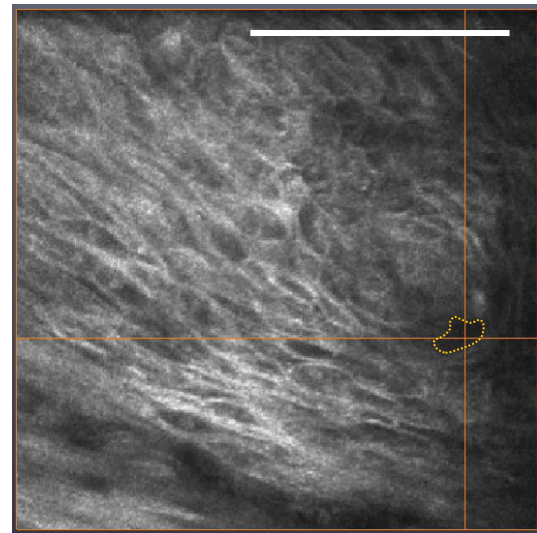


Abb. 51: Patient Nr. 4, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 6, fokussierte, markierte Krypte, umgeben von zellkernfreien Zellen

In den hier gezeigten ex-vivo CLSM-Aufnahmen erkennt man eine konfluierende Gewebearchitektur um den fokussierten Punkt. In der Seitansicht präsentiert sich das Korrelat dieser scharf abgrenzbaren, optisch wenig dichten Struktur mit Kontakt zur Gewebeoberfläche (Siehe markierte Struktur). Dabei handelt es sich am ehesten um eine Krypte mit einer geringeren Eindringtiefe (ungefähr 30µm). Umgeben wird die markierte Struktur von größeren Zellen, deren Zellgrenzen scharf abgrenzbar sind und die größtenteils keinen Zellkern aufweisen, im Sinne von Keratinozyten.

In den eigenen histologischen Untersuchungen konnte keine Verhornung gefunden werden. Im histopathologischen Befund wird im Hinblick auf eine mögliche Verhornung keine Stellung genommen.

### 3.7 VAKUOLISIERTE ZELLEN

---

OCT:

Vakuolisierte Zellen wurden - wie in Kapitel 2.1.7 beschrieben - in dieser Arbeit mit der OCT nicht untersucht.

CLSM:



Abb. 52: Patient Nr. 4, CLSM, Seitansicht XZ-Schnittebene Nr. 278, fokussierte vakuolierte Zelle, Skala der Aufsicht übertragbar

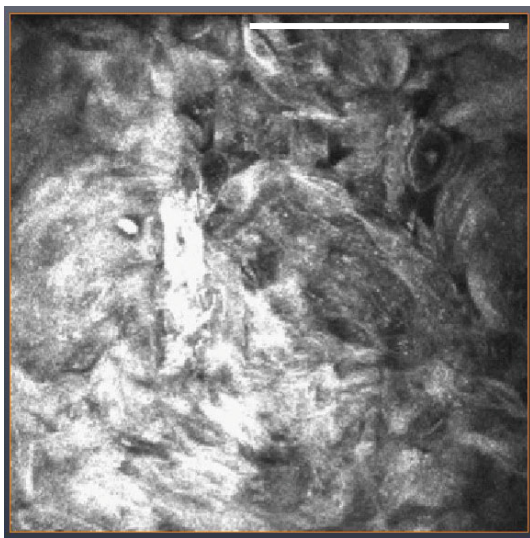


Abb. 53: Patient Nr. 4, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 9, vakuolierte Zelle

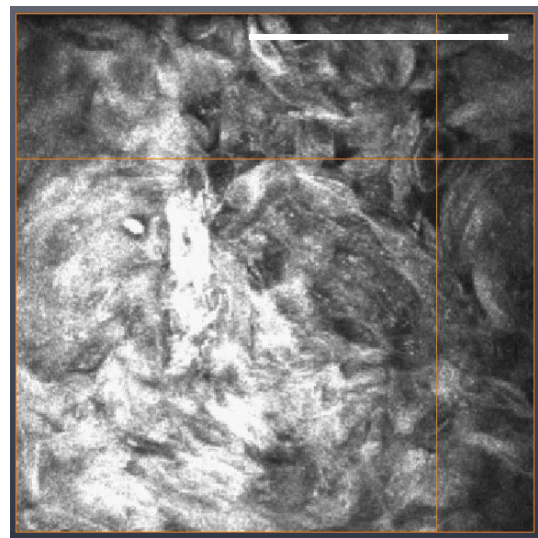


Abb. 54: Patient Nr. 4, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Schnittebene Nr. 9, fokussierte vakuolierte Zelle

Diese CLSM-Bildreihe zeigt im Fokus der Bildachsen eine vakuolierte Zelle. Die Zellmembran ist scharf abgrenzbar, der Fokus liegt direkt auf dem Zellkern. Differentialdiagnostisch kommt am ehesten eine Plattenepithelzelle in Betracht.

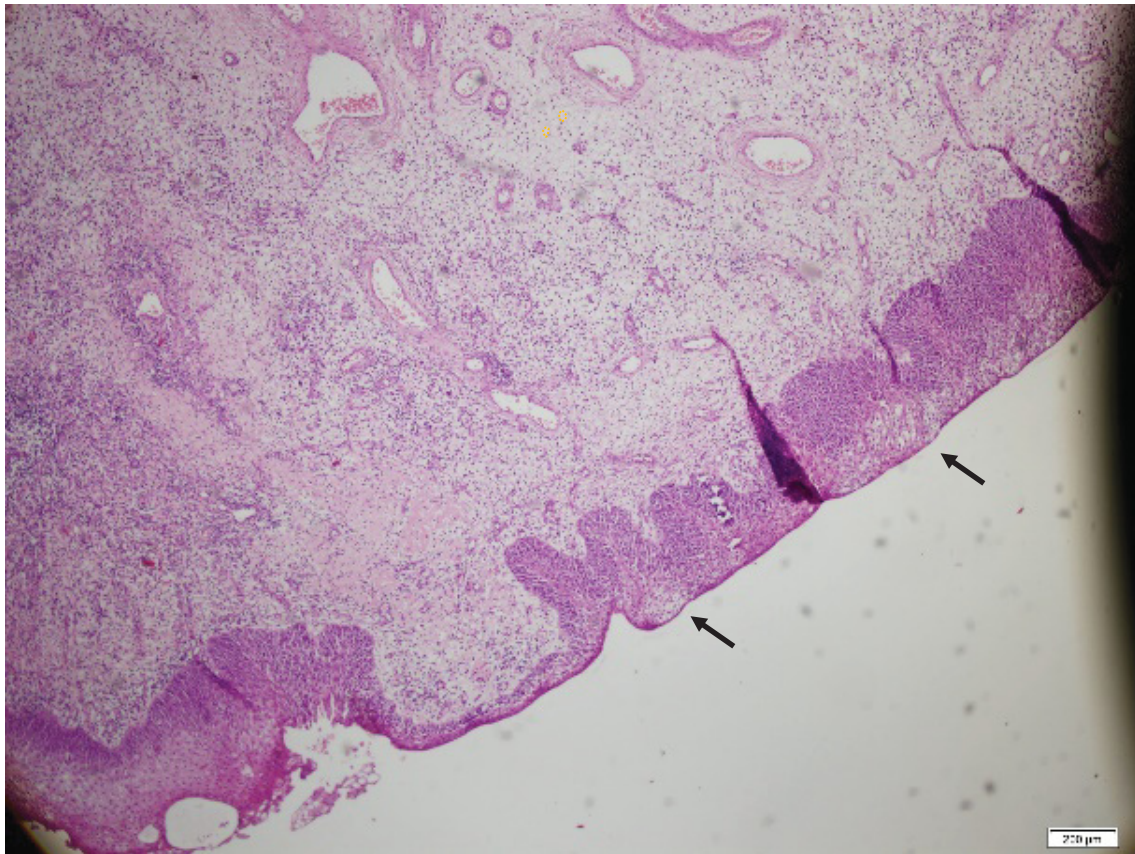


Abb. 55: Patient Nr. 4, HE, x40, 200µm Skala, unterschiedliche Epitheldicken, invertiertes Wachstumsmuster, teilweise zellreiches, teilweise aufgelockertes Stroma mit kleinsten stromalen PR (gelb markiert), vakuolierte Zellen

In dieser Abbildung zeigt sich das Stroma von größeren Gefäßen durchzogen, und lokal teils zellreich (links im Bild), teils zellärmer (im oberen Bereich des Bildes). Im zellärmeren Bereich zeigen sich auch kleine, bindegewebig abgegrenzte, zellfreie Räume im Sinne von kleinsten, stromalen PR (gelb markiert, unter 100µm im Längsachsdiameter). Intraepithelial finden sich multiple vergrößerte Zellen mit hypochromer Färbung und prominentem Zellkern im Sinne von vakuolisierten Zellen (schwarzer Pfeil).

### 3.8 EPITHELIALE EINSCHLÜSSE

---

OCT:

In der OCT konnten keine epithelialen Einschlüsse zweifelsfrei identifiziert werden.

CLSM:

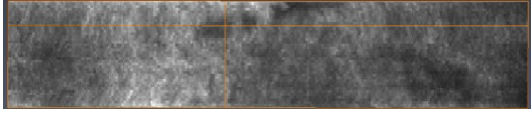


Abb. 56: Patient Nr. 2, CLSM, Seitansicht XZ-Ebene Nr. 333, fokussierter intraepithelialer Einschluss, Skala der Aufsicht übertragbar

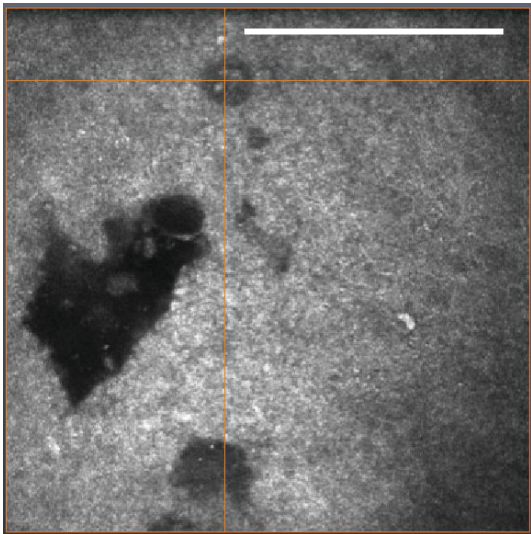


Abb. 57: Patient Nr. 2, CLSM, 200µm Skala, Aufsicht XY-Ebene Nr. 9, fokussierter intraepithelialer Einschluss

Die fokussierte Struktur wurde als intraepithelialer Einschluss gewertet, da sich in einer rundlich, optisch weniger dichten Struktur (im Sinne von eingeschlossenem Mukus) multiple, optisch dichtere Einschlüsse (im Sinne von zellulären Bestandteilen) finden.



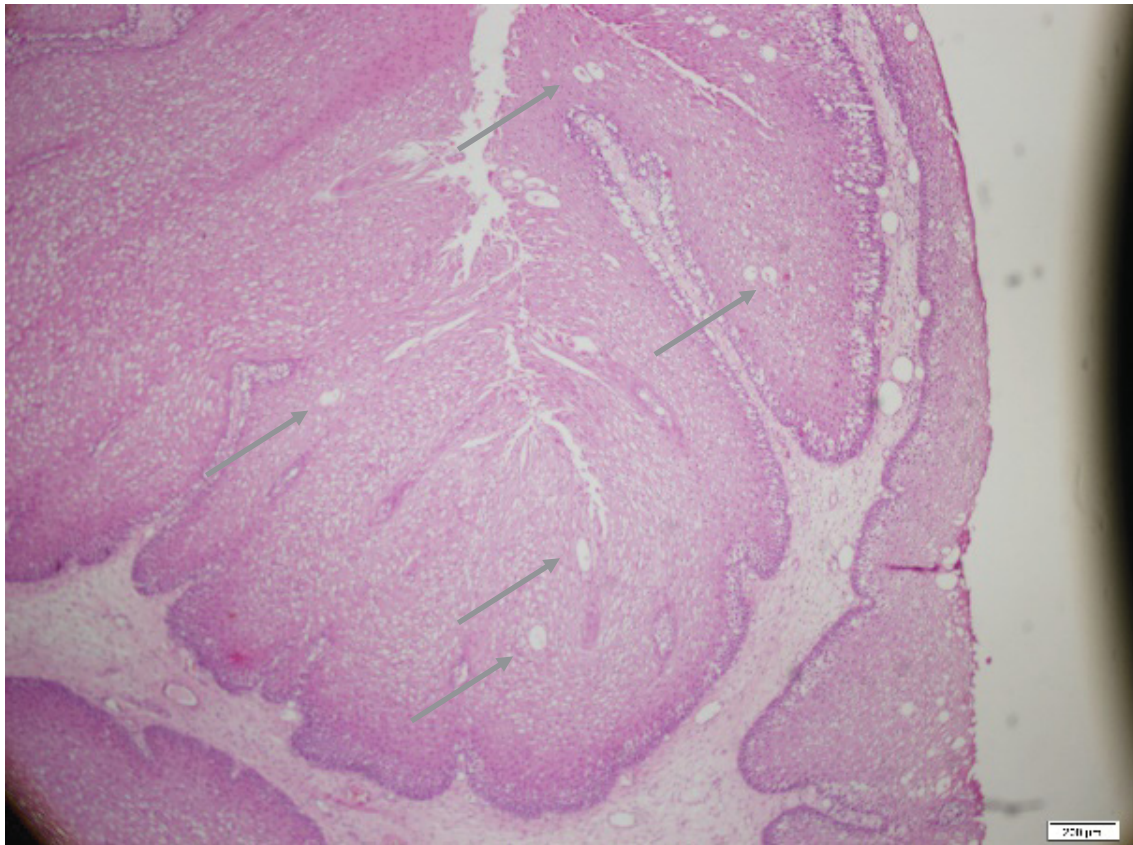


Abb. 58: Patient Nr. 4, HE, x40, 200µm Skala, stark variable Epitheldicken, intraepitheliale Einschlüsse (Siehe graue Pfeile)

Neben einer ausgeprägten Epitheldickenvarianz wird diese Abbildung von multiplen intraepithelialen Einschlüssen geprägt (Siehe grau Pfeile).

### 3.9 QUANTIFIZIERUNG DER OPTISCH KOHÄRENZTOMOGRAPHISCHEN ERGEBNISSE

Tabelle 4 OCT-Funde bei den IP-Patienten

	Inhomogene Epitheldicke	wellige Epithelarchitektur	Krypten/ Epithelzapfen	Kryptenlumen	Keine PR >100µm im Längsachsdiameter	gefundene OCT-Kriterien, die für ein IP sprechen
Patient Nr. 1	1	1	1	0	1	4/5
Patient Nr. 2	1	1	1	0	1	4/5
Patient Nr. 3	1	1	1	1	1	5/5
Patient Nr. 4	1	1	1	0	1	4/5
Patient Nr. 5	0	1	1	1	1	4/5
Gesamt	4/5	5/5	5/5	2/5	5/5	21/25

Die Kriterien der welligen Epithelarchitektur, der Krypten/Epithelzapfen sowie der fehlenden PR kleiner als 100µm konnten mit der OCT durchweg bei allen IP-Patienten dargestellt werden. Insgesamt 21 der 25 IP-Eigenschaften waren in der OCT wiederzufinden. Die inhomogene Epitheldicke war bei einem IP-Patienten mit der OCT nicht wahrzunehmen, Kryptenlumen konnten nur bei zwei der fünf IP-Patienten identifiziert werden (Tabelle 4).

Tabelle 5 OCT-Funde bei den NP-Patienten

	Inhomo- gene Epithel- dicke	wellige Epithel- architektur	Krypten/ Epithel- zapfen	Krypten- lumen	Keine PR >100µm im Längsachs- diameter	gefundene OCT- Kriterien die für ein IP sprechen
Patient Nr. 6	0	0	0	0	0	0/5
Patient Nr. 7	0	0	0	0	0	0/5
Patient Nr. 8	0	0	0	0	0	0/5
Patient Nr. 9	0	0	0	0	0	0/5
Patient Nr. 10	0	0	0	0	0	0/5
Gesamt	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5	0/25

Es konnten keine der aufgestellten IP-Eigenschaften bei den NP-Patienten gefunden werden (Tabelle 5).

### 3.10 QUANTIFIZIERUNG DER KONFOKALMIKROSKOPISCHEN ERGEBNISSE

Tabelle 6 CLSM-Funde bei den IP-Patienten

	Kryptenlumen	Keratinozyten	vakuolisierte Zellen	intra-epitheliale Einschlüsse	gefundene CLSM-Kriterien die für ein IP sprechen
Patient Nr. 1	1	0	0	0	1/4
Patient Nr. 2	1	0	1	1	3/4
Patient Nr. 3	1	0	0	1	1/4
Patient Nr. 4	1	1	1	0	3/4
Patient Nr. 5	1	0	1	1	3/4
Gesamt	5/5	1/5	3/5	3/5	12/20

Das Kriterium der Kryptenlumen konnte durchweg bei allen IP-Patienten mit der CLSM identifiziert werden. Das Kriterium der Keratinozyten zeigte sich einmal. Vakuolisierte Zellen sowie intraepitheliale Einschlüsse fanden sich je dreimal (Tabelle 6).

Tabelle 7 CLSM-Funde bei den NP-Patienten

	Kryptenlumen	Keratinozyten	vakuolisierte Zellen	Intra-epitheliale Einschlüsse	gefundene CLSM-Kriterien die für ein IP sprechen
Patient Nr. 6	0	0	0	1	1/4
Patient Nr. 7	0	0	1	0	1/4
Patient Nr. 8	0	0	0	0	0/4
Patient Nr. 9	0	0	0	0	0/4
Patient Nr. 10	0	0	0	0	0/4
Gesamt	0/5	0/5	1/5	1/5	2/20

Bei keinem der NP-Patienten konnte mit der CLSM ein Kryptenlumen als IP-definierende Eigenschaft identifiziert werden. Es wurden keine Keratinozyten identifiziert. Es fanden sich bei je einem NP-Patienten vakuolisierte Zellen und intraepitheliale Einschlüsse (Tabelle 7).

### 3.11 OPTISCH KOHÄRENZTOMOGRAPHISCHE EPITHELDICKENMESSUNG

Tabelle 8 OCT-Epitheldickenmessungen bei den IP-Patienten

	OCT-Untersuchungsmodalität	Mittelwert der Epitheldickenmessungen in Mikrometer mit eingerechnetem Brechungsindex	Standardabweichung der Epitheldickenmessungen in Mikrometer mit eingerechnetem Brechungsindex
Patient Nr. 1	in-vivo	108,4	50,0
Patient Nr. 2	ex-vivo	204,7	124,2
Patient Nr. 3	ex-vivo	170,1	60,1
Patient Nr. 4	ex-vivo	253,5	155,3
Patient Nr. 5	ex-vivo	114,0	26,9
Mittelwert		170,1	83,3

Die Messung bei Patient Nr. 1 erfolgte mithilfe der in-vivo OCT. Die patientenspezifischen Mittelwerte der Epitheldicken, gemessen mit einem OCT-Verfahren, bewegten sich alle im Bereich von 100µm bis 260µm. Der Mittelwert der IP-Epitheldicken betrug 170,1µm. Der Mittelwert der IP-Standardabweichungen lag bei 83,3µm. Bei vier von fünf IP-Patienten war eine größere Epitheldickenstandardabweichung als 40µm festzuhalten und sämtliche Standardabweichungen der IP-Epitheldicken lagen über 25µm (Tabelle 8).

Tabelle 9 OCT-Epitheldickenmessungen bei den NP-Patienten

	OCT-Untersuchungsmodalität	Mittelwert der Epitheldickenmessungen in Mikrometer mit eingerechnetem Brechungsindex	Standardabweichung der Epitheldickenmessungen in Mikrometer mit eingerechnetem Brechungsindex
Patient Nr. 6	ex-vivo	53,3	14,2
Patient Nr. 7	ex-vivo	52,4	20,2
Patient Nr. 8	ex-vivo	59,0	11,3
Patient Nr. 9	ex-vivo	49,1	7,3
Patient Nr. 10	ex-vivo	94,1	21,3
Mittelwert		61,6	14,9

Die mit der ex-vivo OCT gemessenen, patientenbezogenen NP-Epitheldickenmittelwerte lagen zwischen 45µm und 95µm. Deren Mittelwert lag bei 61,6µm und der Mittelwert der Standardabweichung der NP-Epitheldicken lag bei 14,9µm. Keine der Standardabweichungen der NP-Epitheldicken überschritt 25µm (Tabelle 9).



## **IV. DISKUSSION**

### **4.1 VERWENDETE UNTERSUCHUNGSMETHODEN**

---

Die OCT stellt eine Methode zur Untersuchung der Gewebearchitektur dar (Welzel, J. et al., 2004). Die CLSM ermöglicht die zelluläre und subzelluläre Darstellung des Gewebes (Just, T. et al., 2007; Rajadhyaksha et al., 1995; Rajadhyaksha et al., 1999; Stave, J. et al., 2002). Die beiden Methoden stellen durch ihre unterschiedlichen Darstellungsmöglichkeiten potentiell komplementäre Untersuchungstechniken zur Gewebeanalyse dar (Just, T. & Pau, 2013), weswegen sie in dieser Studie beide auf ihre Verwendbarkeit bei der Differenzierung von IP zu NP untersucht wurden.

Die in-vivo OCT zeigte ein erstes vielversprechendes Beispiel. Die nahezu vollständige ex-vivo Untersuchung durch die OCT ermöglichte eine erste Testung der aufgestellten Differenzierungskriterien. Die in-vivo Verwendung zur Diagnostik und zur Unterstützung der Biopsiegewinnung sollte der Ansatzpunkt für zukünftige Studien sein.

Keine der in-vivo CLSM-Bildreihen lieferte eine präsentationswürdige Qualität. Die in-vivo CLSM zeigte sich in einem technisch noch nicht ausgereiften Zustand. Besonders die fehlende Gerätehalterung und damit verbundene, unmögliche Punktfixation während eines Volumenscans sowie die umständliche Kontaktgelapplikation und damit fehlende Ortspersistenz zwischen einzelnen Volumenscans, stellten Grundprobleme dar.

Die ex-vivo CLSM konnte mit Hilfe der Eigenschaft der Kryptenlumen die IP und NP identifizieren. Mit weiterer technischer Optimierung könnten zukünftig weitere Identifikations- und Differenzierungskriterien für die CLSM gefunden und damit ihr Anwendungsgebiet erweitert werden.

Mit einer Gerätehalterung könnten mehrere Volumenscans aneinandergereiht werden, sodass bis zur maximalen Eindringtiefe der CLSM untersucht werden könnte. Je nach Gewebeart liegt diese zwischen 100µm und 250µm (Farahati et al., 2010). Eine weitere technische Optimierung der CLSM-Untersuchungssituation ist für zukünftige Studien anzuraten.

### **4.2 QUALITATIVE IP-NP-DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN**

#### **4.2.1 EPITHELDICKE**

---

Mit der OCT konnte die inhomogene Epitheldicke als qualitativer Hinweis auf ein IP bei vier der fünf IP-Patienten identifiziert werden. Mit der inhomogenen Epitheldicke könnte ein vielversprechendes Kriterium aufgestellt worden sein. In dem hier vorliegenden falsch-negativen

---

Fall war zwar in der Histologie deutlich verdicktes Epithel auszumachen, aber in den Gewebeanteilen die mithilfe der OCT untersucht wurden, kam nur homogen-dünnes Epithel zur Abbildung. Dazu passend wurde in der Literatur das IP-Epithel als vielgestaltig beschrieben: respiratorisches Flimmerepithel, unverhorntes, seltener verhorntes Plattenepithel oder transitionalzelliges Epithel soll zu finden sein (Hyams, 1971; Zhao et al., 2016). Beim falsch-negativen Fall (Pat. Nr. 5) kam es lediglich zur Darstellung von flachem Epithel in der OCT. Das wird am ehesten mit einer Untersuchung an einem IP-freien Gewebestück erklärt und schließt ein IP nicht zwingend aus. Zur Verringerung der Wahrscheinlichkeit von falsch-negativen Befunden müssten an mehreren Gewebeabschnitten Untersuchungen durchgeführt werden. Dies muss gegenüber einer verlängerten Untersuchungszeit abgewogen werden. Zukünftige Studien könnten die Rate an falsch-negativen OCT-IP-Funden in Abhängigkeit der Untersuchungszeit analysieren, um ein Untersuchungszeitoptimum zu ermitteln.

#### **4.2.2 EPITHELARCHITEKTUR**

---

Im Schnittbild der OCT zeigte das IP-Epithel auf kleiner Fläche unterschiedlichste Ausrichtungen, sowohl die Epitheloberfläche als auch die Grenzschicht zur Submukosa nahmen einen welligen Charakter an. Dieses wurde in der Arbeit als eine inhomogene Epithelarchitektur definiert.

Für die NP zeigte sich eine gleichbleibende Epithelausrichtung sowie eine gleichbleibende Epitheldicke.

Die IP-typische, wellige Epithelarchitektur, war bei allen OCT-Untersuchungen passend zur Diagnose korrekt festzustellen. Die gute Darstellbarkeit der Gewebearchitektur in der OCT erklärte die souveräne IP-Identifikation mit der OCT (Welzel, J. et al., 2004). Die inhomogene Epithelarchitektur stellte ein potentiell sicheres IP-Identifikationskriterium zur Differenzierung gegenüber NP dar.

#### **4.2.3 KRYPTEN ODER EPITHELZAPFEN**

---

Mithilfe der OCT-Untersuchungen konnten bei jedem der fünf IP-Patienten Krypten oder Epithelzapfen nachgewiesen werden. Die Krypten und Epithelzapfen stellten eine weitere Ausprägungsform der IP-definierenden Eigenschaft dar, sodass die hohe Fundrate mit den Literaturangaben im Einklang steht (Barnes, 2005; Stammberger, H., 1983a). Dass durch die fehlenden Kryptenfunde bei den NP, fünf von fünf richtige NP-Diagnosen gestellt werden konnten, ist durch die homogene Epithelarchitektur der NP erklärt (Fokkens, W. J. et al., 2007; Fokkens, W. J. et al., 2012; Hellquist, H. B., 1996). Das Identifikationskriterium der Krypten/Epithelzapfen, zur OCT-gestützten Diagnosefindung der IP innerhalb einer IP-NP-Gruppe, präsentierte sich als vielversprechend.

---

Die vollständige Darstellung der Krypten ist bei der hier verwendeten Eindringtiefe der CLSM nicht möglich. Alternativ wurde mittels CLSM nach Kryptenlumen gesucht (Siehe Kapitel 4.2.4).

Die für die IP pathognomonische Eigenschaft der Krypten, ist nicht nur bei der Differenzierung gegenüber NP, sondern möglicherweise auch gegenüber anderen Entitäten einsetzbar, wenn denen diese Eigenschaften ebenfalls fehlen (Barnes, 2005).

### **4.2.4 KRYPTENLUMEN**

Die in dieser Arbeit mittels OCT untersuchten Kryptenlumen waren nur bei zwei der fünf IP-Patienten zu finden. Bei der Bildbeurteilung gilt es auf eine Abgrenzung zu lagerungsbedingten Schleimhautfalten zu achten. Je nach Größe der Lumen sind diese in der OCT darstellbar oder nicht. Da aber sowohl Krypten selbst, als auch Kryptenlumen für das Vorhandensein von IP sprechen, zeigt sich für die OCT in der eingeschränkten Darstellbarkeit von Kryptenlumen kein diagnostischer Nachteil.

Anders als bei der CLSM, bei der die Krypten oder Epithelzapfen bei der verwendeten geringen Eindringtiefe nicht darstellbar waren, war das Kryptenlumen das führende Kriterium zur IP-Identifikation mithilfe der CLSM. Diese oberflächennahen Strukturen waren in der CLSM bei allen fünf IP-Patienten identifizierbar. Es zeigten sich keine Kryptenlumen bei den NP-Patienten. In diesen Untersuchungen waren Kryptenlumen nur bei IP identifizierbar und nie bei NP. Diese Ergebnisse liegen im Einklang mit der Theorie (Fokkens, W. J. et al., 2007; Hyams, 1971). Es konnte mithilfe des aufgestellten CLSM-Kriteriums des Kryptenlumens, in jedem der zehn Fälle die histologisch gesicherte Diagnose aus der Gruppe der NP- und IP-Patienten bestätigt werden. Diese Ergebnisse liefern eine stark positive Tendenz hinsichtlich einer korrekten, CLSM-gestützten Diagnosefindung aus einem reinen IP-NP-Kollektiv.

Es finden sich Beschreibungen zur Drüsen in NP (Hellquist, H. B., 1996). Deren Drüsenausführungsgänge könnten eine mögliche Fehlerquelle für die CLSM-gestützte IP-Diagnosefindung durch Kryptenlumen darstellen. Denn durch ihre zirkuläre Gewebeausrichtung um ein oberflächengewandtes Lumen, ergibt sich eine morphologische Ähnlichkeit mit dem Lumen der Krypten. Zukünftige Untersuchungen könnten die morphologischen CLSM-Eigenschaften von Drüsenausführungsgängen mit dem Kryptenlumen vergleichen.

### **4.2.5 PSEUDOZYSTISCHE RÄUME**

Bei dem Vergleich der Mikroskopie- und OCT-Bilder war auffällig, dass sehr viel größere PR bei den NP zu identifizieren waren, als bei den IP. Da keines der IP-PR im Längsachsdiameter größer als 100µm war, wurde 100µm als möglicher Grenzwert zur Differenzierung zwischen IP und NP aus einem IP-NP-Kollektiv vorgeschlagen.

Tabelle 10 PR-Funde

Entität	Patientennummer	PR in der Mikroskopie, Längsachsdiameter in Mikrometern	PR in der OCT, Längsachsdiameter in Mikrometern
IP	1.	Nicht identifizierbar	Nicht identifizierbar
	2.	<100µm	<100µm
	3.	<100µm	<100µm
	4.	<100µm	<100µm
	5.	<100µm	<100µm
NP	6.	>200µm	>100µm
	7.	>200µm	>200µm
	8.	>100µm	>100µm
	9.	>200µm	>200µm
	10.	>200µm	>200µm

Die Bildqualität der in-vivo OCT ermöglichte keine eindeutige Identifikation von PR bei den IP. Es konnten nicht bei allen NP-Patienten so große PR gefunden werden wie bei Patient Nr. 8, aber dennoch zeigten alle NP-Patienten eine PR-Größe von über 100µm und alle IP zeigten PR von unter 100µm Größe (Tabelle 10).

In unseren Bildern korreliert das Ödem der NP mit großen PR (Couto et al., 2008; Czerny et al., 2014; Diamantopoulos et al., 2000; Fokkens, W. J. et al., 2007; Hadar et al., 2009; Jiang et al., 2013). Das nur teilweise beschriebene Ödem der IP korreliert mit den fehlenden PR-Längsachsdiametern von über 100µm (Barnes, 2005; Hyams, 1971; Zhao et al., 2016). Die Messergebnisse suggerieren eine Korrelation zwischen PR-Größe und Ödemgrad. Die PR-Funde in der OCT waren auch in der Mikroskopie durchgehend wiederzufinden. Das Fehlen eines PR-Längsachsdiameters von über 100µm wurde als IP-Identifikationskriterium bei der Differenzierung gegenüber den ödematösen NP aufgestellt. Zukünftige Untersuchungen müssen die Machbarkeit dieses Identifikationskriteriums weiter untersuchen.

#### 4.2.6 VERHORNUNG

Keratin stellt sich in der OCT als signalintense Schicht dar (Sattler et al., 2013), entsprechende Funde konnte in unserem Patientengut nicht gemacht werden.

Nur bei Patient Nr. 4 konnten Keratinozyten, im Sinne von scharf begrenzten Zellen ohne Zellkern als zytologisches Korrelat der Verhornung mit der CLSM identifiziert werden (Siehe Abb. 50). Diese Fundrate stimmt mit den Angaben der Literatur von 10%-20% der IP-Fälle mit Keratinisierung überein. Die Keratinozyten sind mit der CLSM gegenüber kernhaltigen Zellen leicht zu differenzieren, zudem sind sie durch ihre meist oberflächennahe Lage gut erreichbar für die CLSM.

Als hinreichendes und nicht notwendiges IP-Identifikationskriterium liefert die Verhornung eine eingeschränkte diagnostische Aussagekraft, insbesondere da für die Planung des therapeutischen Vorgehens ein nicht sicher ausgeschlossenes IP keinen diagnostischen Vorteil liefert.

#### **4.2.7 VAKUOLISIERTE ZELLEN**

Vakuolisierte Zellen fanden sich mithilfe der CLSM bei drei IP-Patienten und bei einem NP-Patienten. Der Fund bei dem NP-Patienten zeigt deutlich kleinere, vakuolisierte Zellen als bei den IP-Fällen. Laut den Literaturangaben finden sich bei den NP keine solchen vakuolisierten Zellen wie bei den IP. Die mithilfe von histologischen Spezialfärbungen darstellbare Glykogen-Füllung ist mit der CLSM bisher nicht identifizierbar. Es wurde vielmehr der zytomorphologische Aspekt der randständigen Kernverdrängung zur Untersuchung verwendet. Dieses weniger spezifische Vorgehen erhöht die Fehlinterpretationsrate. Weitere Untersuchungen von Glykogen und glykogenhaltigen Zellen durch die CLSM würden die falsch-positiven Funde dieser Untersuchung vermutlich besser erklären und damit die Wertigkeit dieses Identifikationskriteriums steigern.

#### **4.2.8 EPITHELIALE EINSCHLÜSSE**

In der OCT-Untersuchung fanden sich keine epithelialen Einschlüsse. Bei fehlender Größenangabe in der Literatur, ist eine – für die OCT – zu geringe Größe der epithelialen Einschlüsse eine mögliche Ursache für die ausbleibenden Funde.

Die CLSM-Untersuchungen lieferten den Hinweis auf epitheliale Einschlüsse bei drei der fünf IP-Patienten und auch bei einem NP-Patienten. Epitheliale Einschlüsse sind bei den NP nicht beschrieben. Je größer die epithelialen Einschlüsse waren, desto leichter waren sie mit der CLSM-identifizierbar, da sie dann umso leichter von zellulären Differentialdiagnosen abzugrenzen waren. Fanden sich mehrere zentrale, optisch dichte Strukturen wurde die Differenzierung weiter erleichtert. Eine dreidimensionale Bewertung war empfehlenswert, um die epithelialen Einschlüsse nicht mit Gefäßen, Drüsenausführungsgängen oder Epithelfalten zu verwechseln.

Eine Differenzierung zwischen kleinen epithelialen Einschlüssen zu einzelnen vakuolisierten Zellen kann durch die potentiell ähnliche Konfiguration erschwert sein. Da beide Kriterien bei den IP zu finden sind, würde eine Verwechslung die daraus resultierende Verdachtsdiagnose nicht ändern.

#### **4.3 QUALITATIVE KRITERIEN ZUR DIFFERENZIERUNG ZU KARZINOMEN**

Während des Untersuchungszeitraums fand sich kein untersuchbarer Patient mit einem Karzinom der Nasenschleimhaut. Differenzierungen gegenüber Karzinomen müssen deswegen theoretisch bleiben.

Ein histologisches Identifikationskriterium für maligne Erkrankungen stellt das infiltrative Wachstum dar, gegenüber der intakten BM der IP (Hyams, 1971). Die Penetration der BM als

---

Zeichen des infiltrativen Wachstums ist in der OCT darstellbar (Just, T. et al., 2011), entsprechend wäre die OCT zur Karzinomdiagnostik mithilfe dieses Kriteriums prinzipiell verwendbar. Durch die CLSM-Gewebedarstellung in der Aufsicht, ist ein infiltrierendes Wachstum mit der CLSM nur schwer möglich (Ulrich et al., 2008), die CLSM wäre demnach für die Karzinomdiagnostik mit diesem Kriterium eher ungeeignet.

Eine Keratinisierung findet sich bei 10% bis 20% der IP, ohne zwingend auf ein Karzinom hinzudeuten. Die Verhornung sollte aber als Warnhinweis gewertet werden, besonders gründlich nach einer möglichen Malignisierung zu suchen (Barnes, 2005; Hyams et al., 1988). Keratin hat einen höheren Brechungsindex als Zytoplasma (Clark et al., 2003) und zeigt sich als signalintense, mit folgendem, geringer werdendem Signal in der OCT (Sattler et al., 2013) und CLSM (Ulrich et al., 2008; Ulrich & Lange-Asschenfeldt, 2013). Eine Keratinisierung könnte demnach als Hinweis auf ein mögliches Karzinom in zukünftigen Arbeiten verwendet werden.

Weitere zelluläre Eigenschaften maligner Entitäten stellen vermehrte Mitoseformen, ein pathologisches Kern-Plasma-Verhältnis sowie eine erhöhte Zellkern- und Zellformvarianz dar. Die IP zeigen einheitliche Zellformen und Kernformen, abgesehen von den bereits beschriebenen vakuolisierten, glykogenhaltigen Zellen sowie selten Mitoseformen, welche insgesamt nie eine Anaplasie suggerieren (Hyams, 1971). Die fehlende Darstellbarkeit von zellulären Eigenschaften, der hier verwendeten OCT (Welzel, J. et al., 2004), lässt eine OCT-gestützte Differenzierung von IP und Plattenepithelkarzinomen (Engl.: Squamous Cell Cancer – SCC) durch die zellulären Eigenschaften nicht zu. Die hohe Auflösung der CLSM könnte eine Differenzierung anhand zellulärer Eigenschaften (Ulrich & Lange-Asschenfeldt, 2013) von IP zu SCC möglich machen.

Die Identifikation von SCC der nasalen Mukosa wäre eine weitere wichtige Differentialdiagnose der IP, bei der die OCT und CLSM ihre Wertigkeit in zukünftigen Studien unter Beweis stellen könnten.

#### **4.4 QUANTITATIVE IP-NP-DIFFERENZIERUNGSKRITERIEN**

---

Die OCT ermöglichte eine vollständige Epitheldickenanalyse des Patientenkollektivs. Der IP-gruppenmittelwert der Epitheldickenmessungen ergab  $170,1\mu\text{m} \pm 83,3\mu\text{m}$  und die Angaben aus der NP-Gruppe ergaben  $61,6\mu\text{m} \pm 14,9\mu\text{m}$  (Siehe Tabelle 8 und Tabelle 9).

#### **IP-NP-VERGLEICH**

---

Die IP-Epitheldicken waren stets größer als die NP-Epitheldicken, ebenso die jeweiligen Standardabweichungen (Siehe Tabelle 8 und Tabelle 9). Bei geringer Stichprobengröße waren statistische Aussagen nur eingeschränkt möglich. Zukünftige größere Stichprobengrößen

---

könnten auf signifikante Gruppenunterschiede hinweisen. Durch die fehlende Überlappung der gruppenspezifischen Epitheldickenmesswerte, wäre zudem ein Epitheldickengrenzwert zur Entscheidungshilfe – IP gegenüber NP – denkbar.

### LITERATURVERGLEICH

---

Durch fehlende Literaturangaben über die IP-Epitheldecke entfiel ein entsprechender Vergleich.

Die durch Hadar et al. ermittelten Dicken des respiratorischen Epithels wurden je nach Status des Nikotinabusus aufgestellt (Hadar et al., 2009). In unserer Untersuchung war keine Veränderung der NP-Epitheldicke bei unterschiedlichem Nikotinabusus zu finden. Zukünftige Untersuchungen über die Epitheldicke von NP sollten den Raucherstatus mitberücksichtigen.

Die Literaturangaben über das NP-bedeckende, respiratorische Epithel von Nichtrauchern lieferten eine Dicke von  $60,4\mu\text{m} \pm 18,4\mu\text{m}$  (Fokkens, W. J. et al., 2007; Hadar et al., 2009). Unsere NP-Gruppenepitheldicke von  $61,6\mu\text{m} \pm 14,9\mu\text{m}$  liegt bezüglich ihres Mittelwertes nur  $1,2\mu\text{m}$  entfernt. Die Differenz der Standardabweichungen betrug lediglich  $3,5\mu\text{m}$ .

Als ein Ausreißer bei unserer Erhebungsreihe zeigte sich Patient Nr. 10 mit seinem Epitheldickenmittelwert von  $94,1\mu\text{m}$ . Die Gruppenangaben der verbliebenen vier NP läge dann bei  $53,5\mu\text{m} \pm 4,1\mu\text{m}$ . Mit diesen Zahlen soll zum Ausdruck gebracht werden, dass bei dieser kleinen Stichprobengruppe ein einzelner Ausreißer große Effekte auf die Gruppenergebnisse haben kann.

Beim Vergleich mit der Literatur ist weiter zu bedenken, dass es sich um einen Vergleich zwischen zwei unterschiedlichen Untersuchungsmodalitäten handelt. Für die Literaturangaben, als Werte aus mikroskopischen Untersuchungen nach histopathologischer Aufarbeitung, ist zu beachten, dass die gewebs- und verfahrensspezifischen Volumenveränderungen der NP nicht bekannt sind. Andere Gewebearten im Kopf-Hals-Bereich liefern stark schwankende Werte. So soll die Mundschleimhaut durch die histopathologische Aufbereitung zwischen 30,7% und 47,3% schrumpfen (Kimura et al., 2003). Die Gaumenmandeln wiederum sollen keiner Gewebeschrumpfung unterliegen (Vent et al., 2014). Und wiederum auf Seiten der eigenen OCT-Messwerte würde ein spezifischer Gewebeschwundindex vermutlich noch präzisere Ergebnisse liefern (Daniltchenko et al., 2006).

### STANDARDABWEICHUNG

---

Die Standardabweichung der OCT-gestützten Epitheldickenmessungen fiel bei keinem IP-Patienten unter  $25\mu\text{m}$  und überstieg bei keinem NP-Patienten  $25\mu\text{m}$  (Siehe Tabelle 8, Tabelle 9). Eine gesteigerte Variabilität der IP-Epitheldicke gegenüber der verringerten Variabilität der NP-Epitheldicke findet sich in den Literaturangaben wieder (Barnes, 2005; Fokkens, W. J. et al., 2007; Hadar et al., 2009; Kramer & Som, 1935; Michaels, 1987; Olthmanns et al., 2016; Vrabec, 1975, 1994).



Die Standardabweichung der Epitheldicke, stellt ein vielversprechendes Kriterium zur Differenzierung von IP gegenüber NP dar. Ein Grenzwert gilt es in zukünftigen Untersuchungen zu erarbeiten.

#### **4.5 VERGLEICH MIT DER LITERATUR**

Es wurde bislang kein Versuch unternommen IP und NP mithilfe der OCT oder CLSM zu differenzieren. Eine PubMed-Suche mit den Suchwörtern „confocal laser scanning microscopy inverted papilloma“ und „optical coherence tomography inverted papilloma“ ergab am 11.10.2016 keine Treffer, sodass ein Vergleich mit Arbeiten im gleichen Themenschwerpunkt ausbleiben müssen. Vergleiche mit anderen Entitäten und Untersuchungsmethoden werden im Folgenden besprochen.

##### **4.5.1 KONTAKTENDOSKOPIE**

Die Kontaktendoskopie (engl.: contact endoscopy - CE) ist, durch den geringen technischen Aufwand und die Möglichkeit einer in-vivo Anwendung bei ambulanten Patienten, die mit unserer Methode am ehesten vergleichbare Untersuchungsmodalität. Ein 0°-Rhinoendoskop, gekoppelt an eine Mikrokamera, untersuchte am nicht narkotisierten Patienten in einem ersten, nativen Untersuchungsablauf die vaskulären Gewebeeigenschaften, in einem zweiten Schritt werden nach Methylenblaufärbung zelluläre Gewebestrukturen untersucht.

Es wurden in der Studie von Romano et al. insgesamt 19 Fälle von einseitiger Polyposis untersucht. Ziel der Studie war die in-vivo Differenzierung von IP gegenüber NP. Zunächst wurden aus den aufgenommenen Bildern beobachtete Charakteristika beschrieben und deren Häufigkeit in Abhängigkeit der Diagnose bestimmt.

Gefäßassoziierte Eigenschaften waren großkalibrige Gefäße (engl.: Large caliber vessels, IP: 90,9%, NP: 12,5%), ausgeprägte Windungen der Gefäße (engl.: Capillary tortuosity, IP: 54,5%, NP: 0%) und dünn verzweigte Gefäße (engl.: Thin branched vessels, IP: 9,1%, NP: 100%). Epitheliale Eigenschaften waren eine zelluläre Heterogenität (engl.: Cellular heterogeneity, IP: 81,8%, NP: 25,0%), irreguläre Kerne (engl.: Irregular nuclei, IP: 9,1%, NP: 12,5%), vakuolierte Zellen (engl.: Vakuolized cells, IP: 90,9%, NP: 0%), Zellnester (engl.: Cell clusters, IP: 45,5%, NP: 0%), Verhornung (engl.: Keratosis, IP: 18,2%, NP: 50,0%), respiratorisches Flimmerepithel (engl.: Ciliated respiratory epithelium, IP: 0%, NP: 62,5%), Plattenepithelmetaplasie (engl.: Squamous metaplasia, IP: 36,4%, NP: 37,5%) und eine epitheliale Hyperzellularität (engl.: Epithelial hypercellularity, IP: 62,5%, NP 62,5%). Stromale Eigenschaften wurden durch das ödematöse Stroma repräsentiert (engl.: Edematous stroma, IP: 18,2%, NP: 37,5%). Drei HNO-Ärzten (Untersucher A, B und C) wurden zu Lernzwecken die diagnosespezifischen Eigenschaften präsentiert. Dann erfolgte die eigenständige und verblindete Bildanalyse der 19 Fälle (bestehend aus elf IP- und acht NP-Fällen). Untersucher A und



Untersucher B erreichten mit je 84,2% (je 16 von 19) signifikant korrekte Diagnosen (Exakter Test nach Fisher mit  $p < 0,05$ ). Untersucher C lieferte mit 73,7% (14 von 19) keine signifikant richtigen Diagnosen (Exakter Test nach Fisher mit  $p < 0,05$ ) (Romano, Voegels, Goto, Prado, Flavio Augusto Passarelli & Butugan, 2007).

Die CE-Bilder ergeben sich, ähnlich wie bei der „klassischen“ Lichtmikroskopie, aus den summierten Bildinformationen der reflektierenden Bildebenen. Im Gegensatz zur Lichtmikroskopie, wo die Menge an reflektierenden Bildebenen durch Dünnschnittpräparate gering gehalten wird, überlagern sich bei der CE alle reflektierenden Bildebenen des untersuchten Gewebes. Durch die summierten Bildinformationen lassen sich oberflächennahe Gefäße umfassender darstellen (Mishra et al., 2012; Warnecke et al., 2010) als mit der CLSM oder OCT, bei welcher die Gefäßdarstellung nur in der einzelnen untersuchten Ebenen möglich ist. Die Gefäßanalyse scheint mit der CE einfacher möglich zu sein als mit den beiden hier vorgestellten Methoden.

Als zweiter Schritt erfolgt die zelluläre Untersuchung mittels Methylenfärbung, welche die Transparenz des Gewebes senkt und die Gefäße somit nicht mehr sichtbar sind (Mishra et al., 2012). Als Einschränkung der CE werden eine geringe Eindringtiefe von 80  $\mu\text{m}$  (Szeto et al., 2011), sowie die unzureichende Darstellung von basalen Zellschichten und der BM beschrieben (Just, T. & Pau, 2013).

Von den epithelialen Kriterien lassen sich einer Diagnose signifikant zuordnen: die zelluläre Heterogenität (IP,  $p = 0,016$ ), die vakuolisierten Zellen (IP,  $p < 0,001$ ), die Zellnester (IP,  $p = 0,031$ ) und das respiratorische Flimmerepithel (NP,  $p = 0,003$ ).

Den histologischen Beschreibungen nach, zeigt das IP-Epithel unterschiedliche, respektive heterogene Epithelarten, die dennoch eine Einheitlichkeit und Gewebepolarität innerhalb der umliegenden Zellen aufweisen (Hyams, 1971). Des Weiteren ist der Eindruck der Heterogenität ein subjektiverer Befund, der zudem auch bei den unterschiedlichen, beschriebenen Epithelien der NP (Fokkens, W. J. et al., 2007) aufkommen kann, wie die zelluläre Heterogenitätsrate von 25% der bei den NP-Fällen bestätigt (Romano et al., 2007). Differenzierungskriterien die, der Theorie nach, eine klare Zuordnung zu den jeweiligen Diagnosen ermöglicht, würde die diagnostische Trennschärfe des Verfahrens erhöhen.

In der Histologie der IP werden vakuolisierte Zellen, meist mit Glykogen gefüllt, beschrieben (Barnes, 2005; Hyams, 1971; Hyams et al., 1988). Wie hoch der Anteil der glykogenhaltigen Zellen bei den NP ist, ist bisher nicht bekannt. Fehlende Beschreibungen lassen eine Abwesenheit bei den NP vermuten. Die klare, diagnosespezifische Zuordnung und die hohe Fundrate bei den IP (vakuolisierte Zellen bei den IP von 90,9% und 0% bei den NP) lassen ein für die CE vielversprechendes Differenzierungskriterium vermuten. Auch mittels CLSM konnte das Kriterium der vakuolisierten Zellen untersucht und bei drei der fünf IP-Patienten identifiziert

werden. Größer angelegte und verblindete Studien müssten die Sensitivität der CLSM untersuchen, um einen besseren Vergleich zwischen den beiden Untersuchungsmethoden zu ermöglichen. Bis dato könnten die beiden Verfahren im Hinblick auf das Kriterium der vakuolierten Zellen ebenbürtig sein.

Bei 45,5% der IP-Fälle und bei keinem der NP-Fälle konnten mithilfe der CE Zellnester (cell clusters) identifiziert werden (Romano et al., 2007). Romano et al. interpretieren diese als die Nester von schleimproduzierenden Zellen (Snyder & Perzin, 1972), sie werden in dieser Arbeit durch die unterschiedlichen Füllbestandteile als epitheliale Einschlüsse bezeichnet (Vgl. Kapitel 4.2.8). Diese IP-Eigenschaft konnte mittels CLSM bei drei von fünf IP-Fällen identifiziert werden. Den histologischen Abbildungen nach zu urteilen, müsste bei einer noch größeren Menge an IP-Fällen diese Eigenschaft darstellbar sein. Da die epithelialen Einschlüsse unter anderem mit Mukus gefüllt sind, entsteht ein zystischer Eindruck (Hyams et al., 1988), der in der CLSM leicht gegenüber einzelnen zellulären Strukturen differenziert werden kann (Guthoff, R. et al., 2006). Auch bei diesem Kriterium muss durch verblindete und größer angelegte Studien die Wertigkeit der CLSM untersucht werden, um einen Vergleich mit der CE möglich zu machen.

Eine Verhornung soll bei 10% bis 20% der IP-Patienten vorzufinden sein (Barnes, 2005; Nielsen, P. L., Buchwald, Nielsen & Tos, 1991), bei den NP wird eine plattenepitheliale Metaplasie beschrieben, aber ohne Verhornung. Diese Angaben scheinen den Funden von Romano et al. entgegen zu stehen (IP-Keratosis: 50,0%; NP-Keratosis: 18,2%, (Romano et al., 2007)). Die Verhornung wurde in dieser Untersuchungen als nicht notwendiges, aber hinreichendes Kriterium bei einem von fünf IP-Patienten zur IP-Identifikation mittels CLSM verwendet.

Entgegen der Funde von Romano et al. wird das respiratorische Flimmerepithel bei den IP beschrieben, manche Fälle sollen sogar fast vollständig damit bedeckt sein (Barnes, 2005). Die Literaturangaben scheinen den Funden von Romano et al. zu widersprechen. Die CLSM kann respiratorisches Epithel und deren Zilien auch noch Stunden nach der Entnahme darstellen (Guthoff, R. et al., 2006). Durch die Beschreibungen von respiratorischem Epithel bei IP (Barnes, 2005) und bei NP (Fokkens, W. J. et al., 2007) wurde diese Eigenschaft bei unserer Untersuchung nicht zu Differenzierung herangezogen.

Die gewebemorphologischen und epithelarchitektonischen Eigenschaften der IP (Epitheldicke, Epithelarchitektur, Krypten oder Epithelzapfen) konnten durch ihre geringe Eindringtiefe mit der CE nicht untersucht werden - im Gegensatz zur OCT.

Die stromale Eigenschaft des Ödems erbrachte bei der CE nicht-signifikante Werte zur Differenzierung zwischen den Gewebearten. Durch die Darstellungsmöglichkeit der PR mithilfe der OCT, scheint ein weiteres Differenzierungskriterium aufgestellt worden zu sein.

Die von Romano et al. präsentierten CE-Funde für die Differenzierung von IP gegenüber NP wirken zum Teil vielversprechend. Die Differenzierung anhand von Gefäßen scheint ein Vorteil der CE gegenüber unseren Methoden zu sein. Dieser Vorteil könnte möglicherweise durch zukünftige 3D-Rekonstruktionen der Bildinformationen aus OCT bzw. CLSM ausgeglichen werden. Die vakuolisierten Zellen und die epithelialen Einschlüsse sind sowohl mit der CE als auch mit der CLSM darstellbar. Die Keratinozyten sind mit der CLSM bei den IP in einem von fünf Patienten identifiziert worden, diese Funde scheinen mit den Literaturangaben zu korrelieren. Die Darstellung von PR mittels OCT als Ödem-Korrelat könnte ein überzeugendes, stromales IP-NP-Differenzierungskriterium für die OCT-Untersuchungen darstellen.

Das verblindete Studiendesign und die vollständige in-vivo Diagnostik sind Vorteile der Studie von Romano et al. Die fehlende Darstellungsmöglichkeit von gewebearchitektonischen Eigenschaften mit der CE, die bei den IP gegenüber den NP eine der herausragende Eigenschaften darzustellen scheint, ist ein Vorteil der OCT. Die CLSM scheint im Bezug zu den zellulären Differenzierungsmöglichkeiten teilweise ebenbürtig gegenüber der CE zu sein.

#### **4.5.2 COMPUTERTOMOGRAPHIE**

Die CT stellt die initiale Schnittbildgebung bei suspekten nasalen Schwellungen dar. Es gibt keine pathognomonischen Eigenschaften der IP in der CT (Chawla et al., 2016). Die Kombination der klassischen Lokalisation einer einseitigen, weichen Gewebsvermehrung am mittleren Meatus mit typisch zentrifugaler Ausdehnung und nichtdestruierender, knöcherner Veränderungen (Ausdünnung, Verformung und Resorption), unterstützt die korrekte IP-Diagnose mittels CT (Chawla et al., 2016). Die mithilfe der CT gewonnene anatomische Übersicht kann für ein bildunterstütztes, intraoperatives Navigationssystem verwendet werden (Lund et al., 2010).

Die CT kann einen Verdacht auf ein IP stellen und damit die Indikation für weitere Untersuchungen bereiten. Einen Mehrwert liefert die CT besonders durch die intraoperative Orientierungshilfe. Sie erbringt Informationen über knöcherne Destruktionen sowie eine grobe Aussage über die Tumorausdehnung innerhalb der NNH-Anatomie.

Nachteilig ist, dass die CT keine eigenständige und zweifelsfreie IP-Diagnose erbringen kann (Chawla et al., 2016). Die Differenzierung zwischen Tumor und postobstruktiven Flüssigkeitsansammlungen ist unzureichend, sodass der Tumor meist als zu groß eingestuft wird. Zudem stellt die Differenzierung von IP-Rezidiven gegenüber Granulationsgewebe ein ungelöstes Problem für die CT in der Nachsorgesituation dar (Chawla et al., 2016).

#### **4.5.3 POSITRONEN-EMISSIONS-TOMOGRAPHIE /COMPUTERTOMOGRAPHIE**

Mithilfe der PET/CT wurden in einer Studie der Arbeitsgruppe um Yilmaz suspekte, einseitige, nasale Schwellungen verblindet untersucht und mit der gewonnenen Histologie verglichen. Es

---

wurden drei Gruppen gebildet: die der NP (acht Patienten), die der IP (zehn Patienten) und die der SCC (neun Patienten). Bei der PET/CT-gestützten Differenzierung von IP und SCC gegenüber NP ergab sich eine Sensitivität von 40%, eine Spezifität von 100%, ein positiver prädiktiver Wert von 0% und ein negativer prädiktiver Wert von 43%. Die Erkenntnisse in der Studie waren unter anderem, dass eine Entzündung oder eine plattenepitheliale Metaplasie zu höheren Aufnahmewerten der Fluorodesoxyglucose bei den NP führte (Yilmaz et al., 2015). Die fehlende Differenzierung von IP-Rezidiven gegenüber Granulationsgewebe stellt eine weitere Einschränkung der PET/CT dar (Chawla et al., 2016). Aufgrund der vergleichsweise schlechten Differenzierung, der Strahlenbelastung und den hohen Kosten erscheint die PET/CT als wenig geeignet zur Differenzierung von IP und NP.

#### **4.5.4 MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE**

---

Ein cerebriformes Muster gilt als eine IP-Eigenschaft in der MRT (Jeon, T. Y. et al., 2008). Sie ist aber nicht spezifisch für die IP, sondern kann auch ein Zeichen für ein malignes Geschehen sein (Jeon, T. Y. et al., 2008; Maroldi et al., 2004). Paart man aber die cerebriformen Muster in der MRT mit den IP-typischen, ossären Veränderungen in der CT, liefern diese beiden Verfahren kombiniert einen hohen Verdacht auf ein IP gegenüber einem malignen Geschehen (Chawla et al., 2016). Die MRT stellt des Weiteren eine Methode zur Differenzierung des IP gegenüber umliegenden Entzündungen sowie postobstruktiver Flüssigkeitsansammlungen dar. Die MRT kann auch zur Diagnostik bei intraorbitalen und intrakranialen Geschehen verwendet werden (Chawla et al., 2016).

Die gewonnene Orientierungshilfe, die Informationen über die Tumorausbreitung, die Differenzierung gegenüber postobstruktiven Flüssigkeitsverhalten sowie die Diagnostik in endoskopisch unerreichbaren Regionen, sind Vorteile der MRT. Erste Belege für eine korrekte Differenzierung von IP-Rezidiven gegenüber Granulationsgewebe mithilfe dynamischer und kontrastmittelunterstützter MRT-Untersuchungen wurden 1999 von Lai et al. erbracht (Lai et al., 1999).

Keine der beiden Schnittbildverfahren führt isoliert zu einer klaren Diagnose. Erst kombiniert ergibt sich ein möglicher, starker Verdacht auf ein IP. Die Untersuchungskombination aus CT und kontrastmittelunterstützter MRT stellt aber einen hohen technischen und finanziellen Aufwand dar, der in der präoperativen Situation gerechtfertigt sein könnte, aber nicht in der regelmäßigen Nachsorgesituation zu Anwendung kommt.

#### **4.6 ERWEITERUNGEN FÜR EINE NICHT-INVASIVE GEWEBEANALYSE**

---

Ein Vorschlag für ein Orientierungskonzept innerhalb des – mittels OCT untersuchten – Gewebes zur präziseren Korrelation mit den histologischen Funden, lieferten Bechara et al. in

---



Form von spezieller Farbe welche vor der Entnahme in das Gewebe geimpft wird (Bechara et al., 2004).

Die Entwicklung einer OCT, die eine zelluläre Analyse in Echtzeit ermöglicht, könnte mit der HD-OCT entstanden sein (Boone et al., 2015; Cao & Tey, 2015; García-Hernández, Roldán-Marín, Iglesias-Garcia & Malveyh, 2013; Kieval et al., 2012; Nanji et al., 2015). Damit wäre die komplementäre Verwendung von OCT und CLSM nicht mehr nötig und nur noch ein einzelnes Gerät zu erwerben, was die Investitionskosten wahrscheinlich reduzieren würde.

Eine Identifikation der Wellenlänge mit der gewebespezifisch größten Eindringtiefe könnte eine weitere technische Optimierung der OCT ergeben (Sattler et al., 2013).

Eine progrediente Anwendung und Entwicklung besonders von endoskopischen Varianten von OCT und CLSM würde die Akzeptanz und Anwendungsmöglichkeiten weiter steigern (Just, T. et al., 2010; Just, T. & Pau, 2013; Montigny, Strupler, Goulamhousen & et al., 2014; Robles-Medrand, 2016; Tsai, Fujimoto & Mashimo, 2014; Villard, Cheruku et al., 2009; Villard, Paranjape et al., 2009; Volgger, V., Girschick et al., 2016).

## **V. ZUSAMMENFASSUNG**

Die entzündlichen nasalen Polypen (NP) sind häufig und können konservativ oder zurückhaltend operativ therapiert werden. Eine seltenere Differentialdiagnose mit makroskopischer Verwechslungsgefahr stellen die Invertierten Papillome (IP) dar, die aufgrund ihres Rezidivrisikos und ihres Entartungsrisikos radikal operiert werden müssen. Eine möglichst sichere in-vivo Unterscheidung wäre für die Wahl des Operationsverfahrens und in der Nachsorge wichtig. Die optische Kohärenztomographie (Engl.: optical coherence tomography – OCT) und die konfokale Mikroskopie (Engl.: confocal laser-scanning microscopy – CLSM) sind optische Untersuchungsverfahren, die komplementäre Informationen über feingewebliche Strukturen nicht-invasiv liefern können.

In der vorliegenden Arbeit wurden aus den Literaturangaben bezüglich der histologischen Eigenschaften der IP und NP und unter Berücksichtigung der Limitationen der OCT und CLSM Kriterien für die Identifikation und Differenzierung von IP und NP ermittelt.

Für die OCT-Untersuchung wurden folgende IP-Identifikations- und Differenzierungskriterien aufgestellt: Inhomogene Epitheldicke, wellige Epithelarchitektur, Krypten oder Epithelzapfen, Kryptenlumen, keine pseudozystischen Räume (PR) über 100µm Längsachsdiameter. Mittels OCT wurde zudem die Epitheldicke der IP und NP in Mikrometern vermessen.

Für die CLSM-Analyse wurden folgende IP-Identifikationskriterien ermittelt: Kryptenlumen, Keratinozyten, vakuolierte Zellen und epitheliale Einschlüsse.

Diese Kriterien wurde anschließend im Sinne einer Machbarkeitsstudie bei jeweils fünf IP- und fünf NP-Patienten präoperativ in-vivo und postoperativ ex-vivo mit der OCT und der CLSM untersucht.

Die für die OCT aufgestellten IP- Identifikationskriterien konnten 21 von 25-Mal in der Gruppe der IP-Patienten verzeichnet werden. Bei jedem IP-Patienten waren mindestens vier der fünf aufgestellten Kriterien nachweisbar. Die OCT präsentierte keine IP- Identifikationskriterien in der Gruppe der NP-Patienten.

Die für die CLSM aufgestellten IP- Identifikationskriterien zeigten sich 12 von 20-mal bei der Gruppe der IP-Patienten. Kryptenlumen waren bei allen IP-Patienten und bei keinem NP-Patienten mittels CLSM zu finden. Die CLSM erbrachte auch den Nachweis von zwei IP-Identifikationskriterien aus der Gruppe der NP-Patienten.

Die aufgestellten OCT-Kriterien lieferten in dieser ersten Machbarkeitsstudie sehr gute Ergebnisse bei der IP-Identifikation. Bei der CLSM war das Kryptenlumen das eindeutigste Differenzierungskriterium.

Die mit der OCT gemessene Epitheldicke der Gruppe der IP betrug  $170,1\mu\text{m} \pm 83,3\mu\text{m}$  und die Epitheldicke der Gruppe der NP betrug  $61,6\mu\text{m} \pm 14,9\mu\text{m}$ .

Aufgrund der geringen Verfügbarkeit der Geräteausleihe und der geringen Inzidenz der IP war nur eine geringe Untersuchungsanzahl mit der in-vivo OCT möglich. Die in-vivo Untersuchung der OCT lieferte eine gute Bildqualität bei schwieriger Bildakquise.

Die in-vivo CLSM lieferte mit dem zur Verfügung stehenden Gerät keine ausreichende Bildqualität. Eine weitere technische Entwicklung, insbesondere mit einer Haltefunktion und einer lokalen Kontaktgel-Applikation, wäre für die in-vivo CLSM von Vorteil. Dann wäre auch eine praktikablere klinisch-experimentelle Anwendung möglich.

Die Untersuchungsergebnisse zeigen, dass eine Unterscheidung von IP und NP mit der OCT und CLSM möglich sein könnte. Bei entsprechender technischer Weiterentwicklung könnten sich damit Methoden etablieren, die eine korrekte Biopsieentnahme in-vivo unterstützen. Mit der möglichen Weiterentwicklung hin zu einer „virtuellen Biopsie“ würde eine nichtinvasive und strahlenfreie in-vivo Untersuchungsmethode für die IP-Diagnostik präoperativ und in der Nachsorge entstehen. Das würde für Patienten mit Invertierten Papillomen die Diagnostik vereinfachen (kein Gewebekontakt bei der OCT, schnelle Diagnose, strahlenfrei) und durch die fehlende Invasivität die Lebensqualität steigern. Zukünftige Arbeiten müssten dafür die hier aufgestellten Identifikations- und Differenzierungskriterien mit größeren Fallzahlen und verblindet untersuchen, um ihre Validität zu ermitteln.

## **VI. VERZEICHNISSE**

### **6.1 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

---

A-Scan	Axialer Scan
BI	Brechungsindex
BM	Basalmembran
B-Scan	brightness-Scan
CE	englisch: Contact Endoscopy, deutsch: Kontaktendoskopie
CLSM	konfokale Laser-Scanning Mikroskopie
CRS	chronische Rhinosinusitis
CT	Computertomographie
HE	Hämatoxylin-Eosin-Färbung
IP	Invertiertes Papillom
MRT	Magnetresonanztomographie
NP	nasale Polypen
NNH	Nasennebenhöhlen
OCT	optische Kohärenztomographie
PET	Positronen-Emissions-Tomographie
PR	pseudozystische Räume
SCC	englisch: Squamous Cell Cancer; deutsch: Plattenepithelkarzinom
SD-OCT	spectral domain – optical coherence tomography
TD-OCT	time domain – optical coherence tomography
FD-OCT	frequency domain – optical coherence tomography
HRTII	Heidelberg Retina Tomograph II
RCM	Rostocker Cornea Modul
Z-Scan	Untersuchungsebenenraster des HRT



## 6.2 ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1	SCHAUBILD, AUFBAU EINER SPEKTROMETERBASIERTEN FD-OCT.....	10
Abb. 2	SCHAUBILD, AUFBAU EINER KONFOKALEN MIKROSKOPIE .....	13
Abb. 3-11	CLSM, VERANSCHAULICHUNG DER VERSCHIEDENEN SCHNITTEBENEN.....	18, 19
Abb. 12-14	OCT, EPITHELDICKE.....	24, 25
Abb. 15	HE, EPITHELDICKE.....	26
Abb. 16-19	OCT, EPITHELARCHITEKTUR .....	27
Abb. 20-23	HE, EPITHELARCHITEKTUR .....	28, 29
Abb. 24, 25	OCT, KRYPTEN.....	30
Abb. 26-28	HE, KRYPTEN .....	31, 32
Abb. 29-32	CLSM, KRYPTEN.....	33
Abb. 33-36	OCT, KRYPTENLUMEN.....	33, 34
Abb. 37-40	CLSM, KRYPTENLUMEN.....	35
Abb. 41	HE, KRYPTENLUMEN.....	36
Abb. 42, 43	OCT, PSEUDOZYSTISCHE RÄUME.....	36
Abb. 44-47	HE, PSEUDOZYSTISCHE RÄUME.....	37-39
Abb. 48-51	CLSM, VERHORNUNG.....	40
Abb. 52-54	CLSM, VAKUOLISIERTER ZELLEN.....	41
Abb. 55	HE, VAKUOLISIERTER ZELLEN.....	42
Abb. 56, 57	CLSM, EPITHELIALE EINSCHLÜSSE.....	42, 43
Abb. 58	HE, EPITHELIALE EINSCHLÜSSE.....	44

---

### 6.3 TABELLENVERZEICHNIS

Alle abgebildeten Tabellen sind auf Grundlage eigener Messungen und Daten entstanden.

TABELLE 1 ANGABEN ÜBER DAS PATIENTENKOLLEKTIV .....	13
TABELLE 2 UNTERSUCHUNGEN JE PATIENTENGRUPPE UND UNTERSUCHUNGSART .....	14
TABELLE 3: ORIENTIERUNGSHILFE.....	23
TABELLE 4 OCT-FUNDE BEI DEN IP-PATIENTEN .....	44
TABELLE 5 OCT-FUNDE BEI DEN NP-PATIENTEN.....	45
TABELLE 6 CLSM-FUNDE BEI DEN IP-PATIENTEN .....	46
TABELLE 7 CLSM-FUNDE BEI DEN NP-PATIENTEN.....	46
TABELLE 8 OCT-EPITHELDICKENMESSUNGEN BEI DEN IP-PATIENTEN .....	47
TABELLE 9 OCT-EPITHELDICKENMESSUNGEN BEI DEN NP-PATIENTEN .....	47
TABELLE 10 PR-FUNDE .....	51

**VII. LITERATURVERZEICHNIS**

- Abbaci, M., Breuskin, I., Casiraghi, O., Leeuw, F. de, Ferchiou, M., Temam, S. et al. (2014). Confocal laser endomicroscopy for non-invasive head and neck cancer imaging: a comprehensive review. *Oral oncology*, 50 (8), 711–716. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2014.05.002>
- Arslan, H. H., Hidir, Y., Durmaz, A., Karslioglu, Y., Tosun, F. & Gerek, M. (2011). Unexpected tumor incidence in surgically removed unilateral and bilateral nasal polyps. *The Journal of craniofacial surgery*, 22 (2), 751–754. <https://doi.org/10.1097/SCS.0b013e3182085598>
- Barnes, L. (2005). *Pathology and genetics of head and neck tumours* (World Health Organization classification of tumours). Lyon: IARC Press.
- Bechara, F. G., Gambichler, T., Stucker, M., Orlikov, A., Rotterdam, S., Altmeyer, P. et al. (2004). Histomorphologic correlation with routine histology and optical coherence tomography. *Skin research and technology : official journal of International Society for Bioengineering and the Skin (ISBS) [and] International Society for Digital Imaging of Skin (ISDIS) [and] International Society for Skin Imaging (ISSI)*, 10 (3), 169–173. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0846.2004.00038.x>
- Boer, E. de, Moore, L. S., Warram, J. M., Huang, C. C., Brandwein-Gensler, M. S., van Dam, G. M. et al. (2016). On the horizon: Optical imaging for cutaneous squamous cell carcinoma. *Head & neck*, 38 Suppl 1, 13. <https://doi.org/10.1002/hed.24079>
- Boone, M. A., Suppa, M., Marneffe, A., Miyamoto, M., Jemec, G. B. E. & Del Marmol, V. (2015). High-definition optical coherence tomography intrinsic skin ageing assessment in women: a pilot study. *Archives of dermatological research*, 307 (8), 705–720. <https://doi.org/10.1007/s00403-015-1575-x>
- Burck, H.-C. (1988). *Histologische Technik. Leitf. für d. Herstellung mikroskop. Präparate in Unterricht u. Praxis* (Flexibles Taschenbuch, 6., unveränd. Aufl.). Stuttgart: Thieme.
- Cao, T. & Tey, H. L. (2015). High-definition optical coherence tomography - an aid to clinical practice and research in dermatology. *Journal of the German Society of Dermatology*, 13 (9), 886–890. <https://doi.org/10.1111/ddg.12768>
- Chatterjee, S. (2014). Artefacts in histopathology. *Journal of oral and maxillofacial pathology : JOMFP*, 18 (Suppl 1), 6. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.141346>
- Chawla, A., Shenoy, J., Chokkappan, K. & Chung, R. (2016). Imaging Features of Sinonasal Inverted Papilloma: A Pictorial Review. *Current problems in diagnostic radiology*, 45 (5), 347–353. <https://doi.org/10.1067/j.cpradiol.2015.10.004>
- Clark, A. L., Gillenwater, A. M., Collier, T. G., Alizadeh-Naderi, R., El-Naggar, A. K. & Richards-Kortum, R. R. (2003). Confocal microscopy for real-time detection of oral cavity neoplasia. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*, 9 (13), 4714–4721.
- Couto, L. G. F., Fernandes, A. M., Brandao, D. F., Santi Neto, D. d., Valera, F. C. P. & Anselmo-Lima, W. T. (2008). Histological aspects of rhinosinusal polyps. *Brazilian journal of otorhinolaryngology*, 74 (2), 207–212.
- Czerny, M. S., Namin, A., Gratton, M. A. & Antisdell, J. L. (2014). Histopathological and clinical analysis of chronic rhinosinusitis by subtype. *International forum of allergy & rhinology*, 4 (6), 463–469. <https://doi.org/10.1002/alr.21304>
- Danilchenko, D., König, F., Lankenau, E., Sachs, M., Kristiansen, G., Huettmann, G. et al. (2006). Anwendung der optischen Kohärenztomographie (OCT) bei der Darstellung von Urothelerkrankungen der Harnblase. *Der Radiologe*, 46 (7), 584–589. <https://doi.org/10.1007/s00117-005-1250-x>

- Davies, K., Connolly, J. M., Dockery, P., Wheatley, A. M., Olivo, M. & Keogh, I. (2015). Point of care optical diagnostic technologies for the detection of oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. *The surgeon : journal of the Royal Colleges of Surgeons of Edinburgh and Ireland*, 13 (6), 321–329. <https://doi.org/10.1016/j.surge.2015.06.004>
- Diamantopoulos, I. I., Jones, N. S. & Lowe, J. (2000). All nasal polyps need histological examination: an audit-based appraisal of clinical practice. *The Journal of laryngology and otology*, 114 (10), 755–759.
- Erie, J. C., McLaren, J. W. & Patel, S. V. (2009). Confocal microscopy in ophthalmology. *American journal of ophthalmology*, 148 (5), 639–646. <https://doi.org/10.1016/j.ajo.2009.06.022>
- Farahati, B., Stachs, O., Prall, F., Stave, J., Guthoff, R., Pau, H. W. et al. (2010). Rigid confocal endoscopy for in vivo imaging of experimental oral squamous intra-epithelial lesions. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 39 (4), 318–327. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00841.x>
- Fokkens, W. J., Lund, V. J. & Mullol, J. e. a. (2007). EPOS 2007 European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps. *Rhinology* 45; suppl. 20: 1-139. *Rhinology*, 45, 1–139. Zugriff am 20.06.2016. Verfügbar unter <http://www.rhinologyjournal.com/Supplements.php>
- Fokkens, W. J., Lund, V. J., Mullol, J., Bachert, C., Alobid, I., Baroody, F. et al. (2012). EPOS 2012: European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2012. A summary for otorhinolaryngologists. *Rhinology*, 50 (1), 1–298. <https://doi.org/10.4193/Rhino50E2>
- Fujimoto, J. & Swanson, E. (2016). The Development, Commercialization, and Impact of Optical Coherence Tomography. *Investigative ophthalmology & visual science*, 57 (9), 1–13. <https://doi.org/10.1167/iovs.16-19963>
- Gambichler, T., Jaedicke, V. & Terras, S. (2011). Optical coherence tomography in dermatology: technical and clinical aspects. *Archives of dermatological research*, 303 (7), 457–473. <https://doi.org/10.1007/s00403-011-1152-x>
- García-Hernández, A., Roldán-Marín, R., Iglesias-Garcia, P. & Malveyh, J. (2013). In Vivo Noninvasive Imaging of Healthy Lower Lip Mucosa: A Correlation Study between High-Definition Optical Coherence Tomography, Reflectance Confocal Microscopy, and Histology. *Dermatology research and practice*, 2013, 205256. <https://doi.org/10.1155/2013/205256>
- Gonzalez, S., Sanchez, V., Gonzalez-Rodriguez, A., Parrado, C. & Ullrich, M. (2014). Confocal microscopy patterns in nonmelanoma skin cancer and clinical applications. *Actas dermo-sifiliograficas*, 105 (5), 446–458. <https://doi.org/10.1016/j.ad.2013.03.010>
- Guthoff, R., Baudouin, C. & Stave, J. (2006). *Atlas on confocal laser scanning in vivo microscopy in ophthalmology. Principles and applications in diagnostic and therapeutic ophtalmology ; with 2 tables*. Berlin: Springer.
- Guthoff, R. F., Zhivov, A. & Stachs, O. (2009). In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea - a major review. *Clinical & experimental ophthalmology*, 37 (1), 100–117. <https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2009.02016.x>
- Hadar, T., Yaniv, E., Shvili, Y., Koren, R. & Shvero, J. (2009). Histopathological changes of the nasal mucosa induced by smoking. *Inhalation toxicology*, 21 (13), 1119–1122. <https://doi.org/10.3109/08958370902767070>
- Hamdoon, Z., Jerjes, W., Al-Delayme, R., McKenzie, G., Jay, A. & Hopper, C. (2012). Structural validation of oral mucosal tissue using optical coherence tomography. *Head & neck oncology*, 4, 29. <https://doi.org/10.1186/1758-3284-4-29>
-



- Heidelberg Engineering GmbH. (2014). *Spectralis HRA User Manual. Software Version 6.0*: Heidelberg Engineering GmbH.
- Hellquist, H. B. (1996). Nasal polyps update. Histopathology. *Allergy and asthma proceedings : the official journal of regional and state allergy societies*, 17 (5), 237–242.
- Huang, D., Swanson, E. A., Lin, C. P., Schuman, J. S., Stinson, W. G., Chang, W. et al. (1991). Optical coherence tomography. *Science (New York, N.Y.)*, 254 (5035), 1178–1181.
- Hyams, V. J. (1971). Papillomas of the nasal cavity and paranasal sinuses. A clinicopathological study of 315 cases. *The Annals of otology, rhinology, and laryngology*, 80 (2), 192–206.
- Hyams, V. J., Batsakis, J. G. & Michaels, L. (1988). Tumors of the upper respiratory tract and ear. In Hartmann W. H., Sobin L. H. (Ed.), *Atlas of tumor pathology* (2<sup>nd</sup> ed., § 25). Washington, D.C. US: Armed Forces Institute of Pathology.
- Jain, M., Robinson, B. D., Salamon, B., Thouvenin, O., Boccara, C. & Mukherjee, S. (2015). Rapid evaluation of fresh ex vivo kidney tissue with full-field optical coherence tomography. *Journal of pathology informatics*, 6, 53. <https://doi.org/10.4103/2153-3539.166014>
- Jeon, T. Y., Kim, H.-J., Chung, S.-K., Dhong, H.-J., Kim, H. Y., Yim, Y. J. et al. (2008). Sinonasal inverted papilloma: value of convoluted cerebriform pattern on MR imaging. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 29 (8), 1556–1560. <https://doi.org/10.3174/ajnr.A1128>
- Jiang, N., Kern, R. C. & Altman, K. W. (2013). Histopathological evaluation of chronic rhinosinusitis: a critical review. *American journal of rhinology & allergy*, 27 (5), 396–402. <https://doi.org/10.2500/ajra.2013.27.3916>
- Just, T., Lankenau, E., Hüttmann, G. & Pau, H. W. (2009). Intra-operative application of optical coherence tomography with an operating microscope. *The Journal of laryngology and otology*, 123 (9), 1027–1030. <https://doi.org/10.1017/S0022215109004770>
- Just, T., Lankenau, E., Prall, F., Hüttmann, G., Pau, H. W. & Sommer, K. (2010). Optical coherence tomography allows for the reliable identification of laryngeal epithelial dysplasia and for precise biopsy: a clinicopathological study of 61 patients undergoing microlaryngoscopy. *The Laryngoscope*, 120 (10), 1964–1970. <https://doi.org/10.1002/lary.21057>
- Just, T. & Pau, H. W. (2013). Intra-operative application of confocal endomicroscopy using a rigid endoscope. *The Journal of laryngology and otology*, 127 (6), 599–604. <https://doi.org/10.1017/S0022215113000765>
- Just, T., Stave, J., Kreutzer, H.-J., Guthoff, R. & Pau, H. W. (2007). Konfokalmikroskopische Untersuchungen des Kehlkopfepithels. *Laryngo-Rhino-Otologie*, 86 (9), 644–648. <https://doi.org/10.1055/s-2007-966465>
- Just, T., Stave, J., Pau, H. W. & Guthoff, R. (2005). In vivo observation of papillae of the human tongue using confocal laser scanning microscopy. *ORL; journal for oto-rhino-laryngology and its related specialties*, 67 (4), 207–212. <https://doi.org/10.1159/000087320>
- Just, T., Stave, J., Stachs, O., Witt, G., Guthoff, R. & Wilhelm, H. (2011). Rigid Confocal Endoscopy of the Larynx. In M. Chu, M. A. Luedtke & N. Kollias (Eds.), *Confocal Scanning Laser Microscopy: Applications for Imaging Dynamic Processes in Skin In Vivo* (pp. 97–112). INTECH Open Access Publisher. <https://doi.org/10.5772/15800>
- Kieval, J. Z., Karp, C. L., Abou Shousha, M., Galor, A., Hoffman, R. A., Dubovy, S. R. et al. (2012). Ultra-high resolution optical coherence tomography for differentiation of ocular surface squamous neoplasia and pterygia. *Ophthalmology*, 119 (3), 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.ophtha.2011.08.028>
-

- Kimura, M., Tayama, N. & Chan, R. W. (2003). Geometrical deformation of vocal fold tissues induced by formalin fixation. *The Laryngoscope*, 113 (4), 607–613. <https://doi.org/10.1097/00005537-200304000-00005>
- Kraft, M., Glanz, H., Gerlach, S. von, Wisweh, H., Lubatschowski, H. & Arens, C. (2010). Optische Kohärenztomographie. Stellenwert einer neuen Methode bei der Abklärung unklarer Kehlkopfveränderungen. *HNO*, 58 (5), 472–479. <https://doi.org/10.1007/s00106-008-1873-0>
- Kramer, R. & Som, M. L. (1935). True papilloma of the nasal cavity. *Archives of Otolaryngology - Head and Neck Surgery*, 22 (1), 22–43. <https://doi.org/10.1001/archotol.1935.00640030033003>
- Kühnel, W. (2014). *Taschenatlas Histologie. [750 mikroskopische Aufnahmen mit ausführlichen Bildbeschreibungen]* (13., aktualisierte und erweiterte Auflage). Stuttgart [u.a.]: Thieme.
- Lai, P. H., Yang, C. F., Pan, H. B., Wu, M. T., Chu, S. T., Ger, L. P. et al. (1999). Recurrent inverted papilloma: diagnosis with pharmacokinetic dynamic gadolinium-enhanced MR imaging. *AJNR. American journal of neuroradiology*, 20 (8), 1445–1451.
- Lankenau, E., Klinger, D., Winter, C., Malik, A., Müller, H. H., Oelckers, S. et al. (2007). Combining Optical Coherence Tomography (OCT) with an Operating Microscope. In T. M. Buzug (Hrsg.), *Advances in medical engineering* (Springer proceedings in physics, Bd. 210, Bd. 114, S. 343–348). Berlin: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-68764-1\\_57](https://doi.org/10.1007/978-3-540-68764-1_57)
- Lisan, Q., Laccourreye, O. & Bonfils, P. (2016). Sinonasal inverted papilloma: From diagnosis to treatment. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases*, 133 (5), 337–341. <https://doi.org/10.1016/j.anorl.2016.03.006>
- Lou, H., Meng, Y., Piao, Y., Zhang, N., Bachert, C., Wang, C. et al. (2016). Cellular phenotyping of chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Rhinology*, 54 (2), 150–159. <https://doi.org/10.4193/Rhin15.271>
- Lund, V. J., Stammberger, H., Nicolai, P., Castelnovo, P., Beal, T., Beham, A. et al. (2010). European position paper on endoscopic management of tumours of the nose, paranasal sinuses and skull base. Chapter 6-1-1 Inverted Papilloma. *Rhinology. Supplement* (22), 1–143.
- Mahmood, U., Ridgway, J., Jackson, R., Guo, S., Su, J., Armstrong, W. et al. (2006). In vivo optical coherence tomography of the nasal mucosa. *American journal of rhinology*, 20 (2), 155–159.
- Maroldi, R., Farina, D., Palvarini, L., Lombardi, D., Tomenzoli, D. & Nicolai, P. (2004). Magnetic resonance imaging findings of inverted papilloma: differential diagnosis with malignant sinonasal tumors. *American journal of rhinology*, 18 (5), 305–310.
- Michaels, L. (1987). Papillomas of the Nasal Cavity and Paranasal Sinuses. Inverted Papilloma. In L. Michaels (Hrsg.), *Ear, nose and throat histopathology* (S. 165–170). London: Springer-Verlag.
- Minsky, M. (1957), 3013467US.
- Mirza, S., Bradley, P. J., Acharya, A., Stacey, M. & Jones, N. S. (2007). Sinonasal inverted papillomas: recurrence, and synchronous and metachronous malignancy. *The Journal of laryngology and otology*, 121 (9), 857–864. <https://doi.org/10.1017/S002221510700624X>
- Mishra, A., Nilakantan, A., Datta, R., Sahai, K., Singh, S. & Sethi, A. (2012). Contact Endoscopy. A promising tool for evaluation of laryngeal mucosal lesions. *Journal of Laryngology and Voice*, 2 (2), 53–59. Zugriff am 27.10.2016. Verfügbar unter <http://www.laryngologyand-voice.org/text.asp?2012/2/2/53/106978>
- Montigny, E. de, Strupler, M., Goulamhousen, N. & et al. (Hrsg.). (2014). *Multi-scale and functional microscopy for head and neck tissue identification*.
- Murthy, R. K., Haji, S., Sambhav, K., Grover, S. & Chalam, K. V. (2016). Clinical applications of spectral domain optical coherence tomography in retinal diseases. *Biomedical journal*, 39 (2), 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2016.04.003>
-

- Nair, S., James, E., Awasthi, S., Nambiar, S. & Goyal, S. (2013). A review of the clinicopathological and radiological features of unilateral nasal mass. *Indian journal of otolaryngology and head and neck surgery : official publication of the Association of Otolaryngologists of India*, 65 (Suppl 2), 199–204. <https://doi.org/10.1007/s12070-011-0288-5>
- Nanji, A. A., Sayyad, F. E., Galor, A., Dubovy, S. & Karp, C. L. (2015). High-Resolution Optical Coherence Tomography as an Adjunctive Tool in the Diagnosis of Corneal and Conjunctival Pathology. *The ocular surface*, 13 (3), 226–235. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.02.001>
- Nielsen, P. L., Buchwald, C., Nielsen, L. H. & Tos, M. (1991). Inverted papilloma of the nasal cavity: pathological aspects in a follow-up study. *The Laryngoscope*, 101 (10), 1094–1101. <https://doi.org/10.1288/00005537-199110000-00012>
- Olsen, J., Themstrup, L. & Jemec, G. B. E. (2015). Optical coherence tomography in dermatology. *Official Journal of the Italian Society of Dermatology and Sexually Transmitted Diseases*, 150 (5), 603–615.
- Oltmanns, U., Palmowski, K., Wielputz, M., Kahn, N., Baroke, E., Eberhardt, R. et al. (2016). Optical coherence tomography detects structural abnormalities of the nasal mucosa in patients with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 15 (2), 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2015.07.003>
- Olzowy, B., Starke, N., Schuldt, T., Hüttmann, G., Lankenau, E. & Just, T. (Hrsg.). (2013). *Optical coherence tomography and confocal endomicroscopy for rhinologic pathologies: a pilot study* (Bd. 8805).
- Ovari, A., Pau, H.-W. & Just, T. (2011). Optical coherence tomography in otolaryngology. *Hungarian Medical Journal*, 152 (28), 1125–1132. <https://doi.org/10.1556/OH.2011.29164>
- Ovari, A., Starke, N., Schuldt, T., Schröder, S., Zonnur, S., Erbersdobler, A. et al. (2018). Optical coherence tomography and confocal laser scanning microscopy as non-invasive tools in the diagnosis of sinonasal inverted papilloma: a pilot study. *European archives of oto-rhino-laryngology : official journal of the European Federation of Oto-Rhino-Laryngological Societies (EUFOS) : affiliated with the German Society for Oto-Rhino-Laryngology - Head and Neck Surgery*. <https://doi.org/10.1007/s00405-018-4995-3>
- Paddock, S. W. & Eliceiri, K. W. (2014). Laser scanning confocal microscopy: history, applications, and related optical sectioning techniques. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1075, 9–47. [https://doi.org/10.1007/978-1-60761-847-8\\_2](https://doi.org/10.1007/978-1-60761-847-8_2)
- Paz Silva, M., Pinto, J. M., Corey, J. P., Mhoon, E. E., Baroody, F. M. & Naclerio, R. M. (2015). Diagnostic algorithm for unilateral sinus disease: a 15-year retrospective review. *International forum of allergy & rhinology*, 5 (7), 590–596. <https://doi.org/10.1002/alr.21526>
- Petroll, W. M. & Robertson, D. M. (2015). In Vivo Confocal Microscopy of the Cornea: New Developments in Image Acquisition, Reconstruction, and Analysis Using the HRT-Rostock Corneal Module. *The ocular surface*, 13 (3), 187–203. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2015.05.002>
- Piérard, G. E. (1993). In vivo confocal microscopy: a new paradigm in dermatology. *Dermatology (Basel, Switzerland)*, 186 (1), 4–5.
- Prakasam, R. K., Schwiede, M., Hütz, W. W., Guthoff, R. F. & Stachs, O. (2012). Corneal responses to eye rubbing with spectral domain optical coherence tomography. *Current eye research*, 37 (1), 25–32. <https://doi.org/10.3109/02713683.2011.622850>
- Pschyrembel, W. & Dornblüth, O. (Hrsg.). (2014). *Pschyrembel Klinisches Wörterbuch* (266., aktualis. Aufl.). Berlin: De Gruyter.
- Rajadhyaksha, M., Anderson, R. R. & Webb, R. H. (1999). Video-rate confocal scanning laser microscope for imaging human tissues in vivo. *Applied optics*, 38 (10), 2105–2115.
-

- Rajadhyaksha, M., Grossman, M., Esterowitz, D., Webb, R. H. & Anderson, R. R. (1995). In vivo confocal scanning laser microscopy of human skin: melanin provides strong contrast. *The Journal of investigative dermatology*, 104 (6), 946–952.
- Rastogi, V., Puri, N., Arora, S., Kaur, G., Yadav, L. & Sharma, R. (2013). Artefacts: a diagnostic dilemma - a review. *Journal of clinical and diagnostic research*, 7 (10), 2408–2413. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/6170.3541>
- Robles-Medrand, C. (2016). Confocal endomicroscopy: Is it time to move on? *World journal of gastrointestinal endoscopy*, 8 (1), 1–3. <https://doi.org/10.4253/wjge.v8.i1.1>
- Romano, F. R., Voegels, R. L., Goto, E. Y., Prado, Flavio Augusto Passarelli & Butugan, O. (2007). Nasal contact endoscopy for the in vivo diagnosis of inverted schneiderian papilloma and unilateral inflammatory nasal polyps. *American journal of rhinology*, 21 (2), 137–144.
- Saitoh, T., Kusunoki, T., Yao, T., Kawano, K., Kojima, Y., Miyahara, K. et al. (2009). Relationship between epithelial damage or basement membrane thickness and eosinophilic infiltration in nasal polyps with chronic rhinosinusitis. *Rhinology*, 47 (3), 275–279.
- Sattler, E., Kastle, R. & Welzel, J. (2013). Optical coherence tomography in dermatology. *Journal of Biomedical Optics*, 18 (6), 61224. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.061224>
- Schmutzler, J. (2008, Juli). *Seminarvortrag: Optische Kohärenztomographie*, Universität Regensburg. Zugriff am 15.07.2016. Verfügbar unter [www.physik.uni-regensburg.de/forschung/schwarz/KlassischeOptik/9-Kohaerenztomographie.pdf](http://www.physik.uni-regensburg.de/forschung/schwarz/KlassischeOptik/9-Kohaerenztomographie.pdf)
- Snyder, R. N. & Perzin, K. H. (1972). Papillomatosis of nasal cavity and paranasal sinuses (inverted papilloma, squamous papilloma). A clinicopathologic study. *Cancer*, 30 (3), 668–690.
- Stachs, O., Zhivov, A., Kraak, R., Stave, J. & Guthoff, R. (2007). In vivo three-dimensional confocal laser scanning microscopy of the epithelial nerve structure in the human cornea. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*, 245 (4), 569–575. <https://doi.org/10.1007/s00417-006-0387-2>
- Stammberger, H. (1983a). Neue Aspekte zur Genese des Invertierten Papilloms. *Laryngologie, Rhinologie, Otologie*, 62 (6), 249–255.
- Stammberger, H. (1983b). Neue Aspekte zur Genese des invertierten Papilloms. Zweite Mitteilung: Vergleichende Untersuchungen. *Laryngologie, Rhinologie, Otologie*, 62 (9), 422–426.
- Stave, J., Zinser, G., Grümm, G. & Guthoff, R. (2002). Der modifizierte Heidelberg-Retina-Tomograph HRT. Erste Ergebnisse einer In-vivo-Darstellung von kornealen Strukturen. *Der Ophthalmologe : Zeitschrift der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft*, 99 (4), 276–280.
- Steiner, R. (2013). Laser-Gewebe-Wechselwirkungen. In C. Raulin & S. Karsai (Hrsg.), *Lasertherapie der Haut* (Springer Medizin, S. 25–39). Berlin: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-29910-0\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-29910-0_2)
- Szeto, C., Wehrli, B., Whelan, F., Franklin, J., Nichols, A., Yoo, J. et al. (2011). Contact endoscopy as a novel technique in the detection and diagnosis of mucosal lesions in the head and neck: a brief review. *Journal of oncology*, 2011, 196302. <https://doi.org/10.1155/2011/196302>
- Tritt, S., McMains, K. C. & Kountakis, S. E. (2008). Unilateral nasal polyposis: clinical presentation and pathology. *American journal of otolaryngology*, 29 (4), 230–232. <https://doi.org/10.1016/j.amjoto.2007.07.001>
- Tsai, T.-H., Fujimoto, J. G. & Mashimo, H. (2014). Endoscopic Optical Coherence Tomography for Clinical Gastroenterology. *Diagnostics (Basel, Switzerland)*, 4 (2), 57–93. <https://doi.org/10.3390/diagnostics4020057>
-



- Ulrich, M. & Lange-Asschenfeldt, S. (2013). In vivo confocal microscopy in dermatology. From research to clinical application. *Journal of Biomedical Optics*, 18 (6), 61212. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.061212>
- Ulrich, M., Maltusch, A., Rius-Diaz, F., Röwert-Huber, J., González, S., Sterry, W. et al. (2008). Clinical applicability of in vivo reflectance confocal microscopy for the diagnosis of actinic keratoses. *Dermatologic surgery : official publication for American Society for Dermatologic Surgery [et al.]*, 34 (5), 610–619. <https://doi.org/10.1111/j.1524-4725.2007.34117.x>
- Vent, J., Zimmermann, C., Drebber, U., Wedemeyer, I., Eckel, H. E., Huettenbrink, K. B. et al. (2014). Influence of formalin fixation on tissue dimensions in palatal tonsils. *Pathology, research and practice*, 210 (1), 59–61. <https://doi.org/10.1016/j.prp.2013.10.002>
- Villard, J. W., Cheruku, K. K. & Feldman, M. D. (2009). Applications of optical coherence tomography in cardiovascular medicine, part 1. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*, 16 (2), 287–303. <https://doi.org/10.1007/s12350-009-9060-6>
- Villard, J. W., Paranjape, A. S., Victor, D. A. & Feldman, M. D. (2009). Applications of optical coherence tomography in cardiovascular medicine, Part 2. *Journal of nuclear cardiology : official publication of the American Society of Nuclear Cardiology*, 16 (4), 620–639. <https://doi.org/10.1007/s12350-009-9100-2>
- Volgger, V., Arens, C., Kraft, M., Englhard, A. S. & Betz, C. S. (2016). Optische Kohärenztomographie zur Früherkennung epithelialer Dysplasien und mikroinvasiver Karzinome im oberen Luft-Speise-Weg. *HNO*, 64 (1), 34–40. <https://doi.org/10.1007/s00106-015-0102-x>
- Volgger, V., Conderman, C. & Betz, C. S. (2013). Confocal laser endomicroscopy in head and neck cancer: steps forward? *Current opinion in otolaryngology & head and neck surgery*, 21 (2), 164–170. <https://doi.org/10.1097/MOO.0b013e32835df135>
- Volgger, V., Girschick, S., Ihrler, S., Englhard, A. S., Stepp, H. & Betz, C. S. (2016). Evaluation of confocal laser endomicroscopy as an aid to differentiate primary flat lesions of the larynx: A prospective clinical study. *Head & neck*, 38 Suppl 1, 704. <https://doi.org/10.1002/hed.24303>
- Vrabec, D. P. (1975). The inverted Schneiderian papilloma: a clinical and pathological study. *The Laryngoscope*, 85 (1), 186–220. <https://doi.org/10.1288/00005537-197501000-00014>
- Vrabec, D. P. (1994). The inverted Schneiderian papilloma: a 25-year study. *The Laryngoscope*, 104 (5 Pt 1), 582–605.
- Warnecke, A., Auerbeck, T., Leinung, M., Soudah, B., Wenzel, G. I., Kreipe, H.-H. et al. (2010). Contact endoscopy for the evaluation of the pharyngeal and laryngeal mucosa. *The Laryngoscope*, 120 (2), 253–258. <https://doi.org/10.1002/lary.20732>
- Welzel, J., Reinhardt, C., Lankenau, E., Winter, C. & Wolff, H. H. (2004). Changes in function and morphology of normal human skin: evaluation using optical coherence tomography. *The British journal of dermatology*, 150 (2), 220–225.
- Wenner, Y., Wismann, S., Jäger, M., Pons-Kühnemann, J. & Lorenz, B. (2011). Interchangeability of macular thickness measurements between different volumetric protocols of Spectralis optical coherence tomography in normal eyes. *Graefe's archive for clinical and experimental ophthalmology*, 249 (8), 1137–1145. <https://doi.org/10.1007/s00417-011-1630-z>
- White, J. G., Amos, W. B. & Fordham, M. (1987). An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *The Journal of cell biology*, 105 (1), 41–48.
- Wisweh, H. (2010). *Optische Kohärenztomographie der Stimmrinne zur Diagnostik und bildgebungsge-stützten Laserchirurgie*. Dissertation. University of Hannover, Gottfried Wilhelm Leibniz, Hannover.
-

- Zugriff am 05.07.2016. Verfügbar unter <http://edok01.tib.uni-hannover.de/edoks/e01dh10/627313418.pdf>
- Yaqoob, Z., Wu, J. & Yang, C. (2005). Spectral domain optical coherence tomography: a better OCT imaging strategy. *BioTechniques*, 39 (6 Suppl), 13. <https://doi.org/10.2144/000112090>
- Yılmaz, İ., Reyhan, M., Canpolat, T., Yilmazer, C., Erkan, A. N., Yaşar, M. et al. (2015). Positron emission tomography evaluation of sinonasal inverted papilloma and related conditions: a prospective clinical study. *The turkish journal of ear, nose, and throat*, 25 (1), 9–15.
- You, J. Y. & Botelho, P. J. (2016). Corneal In Vivo Confocal Microscopy: Clinical Applications. *Rhode Island medical journal*, 99 (6), 30–33.
- Zhao, L., Li, C. W., Jin, P., Ng, C. L., Lin, Z. B., Li, Y. Y. et al. (2016). Histopathological features of sinonasal inverted papillomas in chinese patients. *The Laryngoscope*, 126 (4), E141-7. <https://doi.org/10.1002/lary.25694>
- Zysk, A. M., Nguyen, F. T., Oldenburg, A. L., Marks, D. L. & Boppart, S. A. (2007). Optical coherence tomography: a review of clinical development from bench to bedside. *Journal of biomedical optics*, 12 (5), 51403. <https://doi.org/10.1117/1.2793736>

## VIII. THESEN

---

1. Die häufigen Nasalen Polypen (NP) werden konservativ oder restriktiv operativ therapiert
  2. Ihre häufigste Differentialdiagnose – die Invertierten Papillome (IP) – sind makroskopisch verwechselbar
  3. Die IP müssen zur Prävention eines Rezidivs und möglicher Malignisierung radikal operiert werden
  4. Die Differenzierung von IP-Rezidiven gegenüber dem umliegenden Granulationsgewebe im ehemaligen Operationsgebiet stellt eine Schwierigkeit in der Nachsorge dar
  5. Der native Situs stellte die Grundlage für die besten operativen Ergebnisse dar, entsprechend ist eine sichere, präoperative Diagnose von Bedeutung
  6. Den Goldstandard zur Diagnostik der IP stellt die Biopsiegewinnung bei makroskopischen Auffälligkeiten mit anschließender histopathologischer Aufbereitung dar, die Computertomographie und Magnetresonanztomographie können den ersten klinischen Verdacht erhärten, die definitive Diagnose erfolgt dennoch durch die Histologie
  7. Für die definitive IP-Diagnose muss demnach erst eine Verletzung durch die Biopsiegewinnung und eine Verunsicherung des Patienten durch die erklärende Verdachtsdiagnose verursacht werden
  8. Die Optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein nichtinvasives, optisches Bildgebungsverfahren, welches die Gewebearchitektur bis zu einer Eindringtiefe von 2mm darzustellen vermag
  9. Die Konfokale Laser-Scanning Mikroskopie (CLSM) ist ein weiteres nichtinvasives, optisches Bildgebungsverfahren, welches zelluläre Bildinformationen bis zu einer verwendeten Eindringtiefe von 80µm komplementär zur OCT liefern kann
  10. Ziel dieser Arbeit war es, mithilfe der Literaturangaben über die histologischen Eigenschaften der IP und NP und unter Berücksichtigung der Limitationen der OCT und CLSM, Differenzierungskriterien für IP und NP aufzustellen und diese Kriterien bei in-vivo und ex-vivo Untersuchungen anzuwenden
  11. Die Epitheldicke als quantitatives Differenzierungskriterium zwischen IP und NP lieferte diagnosenspezifische Unterschiede. Zukünftige Untersuchungen mit größeren Gruppen könnten statistisch auswertbare Epitheldicken für die beiden Entitäten ermitteln und damit objektivierbare Diagnosekriterien erstellen
  12. Die in-vivo OCT konnte bei einem IP-Patienten erste vielversprechende Bilder präsentieren, die in-vivo CLSM lieferte keine ausreichende Bildqualität
  13. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass die OCT und CLSM zur nichtinvasiven Differenzierung zwischen IP und NP vielversprechend sind
  14. Mit einer progredienten Entwicklung, besonders von in-vivo Techniken, wäre damit zukünftig eine OCT/CLSM-unterstützte Biopsieentnahme möglich. Das würde den diagnostischen
-

Wert des Goldstandards weiter erhöhen und parallel die weitere Evaluation der beiden neuen Methoden ermöglichen

15. Sollte in ferner Zukunft eine „virtuelle Biopsie“ mittels OCT/CLSM zur Differenzierung von IP zu NP und zu anderem möglich sein, könnte damit die Diagnostik beschleunigt und erleichtert werden und durch die fehlende Invasivität der Diagnostik die Lebensqualität gesteigert werden



**IX. ANHANG**

---

**9.1 DANKSAGUNG**

---

Ich möchte an dieser Stelle Personen danken, die mich auf unterschiedliche Weise bei der Vollendung meiner Arbeit unterstützten:

Priv.-Doz. Dr. med. Bernhard Olzowy, für die Bereitstellung des Themas und vor allem für die stets fachkompetente und zudem persönliche Unterstützung – ungetrübt von räumlichen Distanzen oder zusätzlichen Verpflichtungen;

Prof. Dr. med. Tino Just, für die klinische Unterstützung und Einweisung in die CLSM;

Prof. Dr. rer. nat. Stachs, für die naturwissenschaftliche Unterstützung und die Einweisung in die OCT;

Dr. med. Attila Óvári, für die kontinuierliche Beratung und Betreuung in Rostock;

Dr. rer. nat. Lankenau, wegen der stets zügigen und fachkompetenten Erläuterung zur in-vivo OCT;

Prof. Dr. med. Erbersdobler, für die Erlaubnis zur Nutzung der Räumlichkeiten des Pathologischen Instituts und der histologischen Präparate sowie die Vermittlung an seine Kollegin;

Dr. med. S. Zonnur, wegen der konstruktiven Gespräche und der Hilfe bei der Erstellung der mikroskopischen Bilder;

Prof. Dr. ing. Kundt, für die Beratung zur Anwendung von statistischen Methoden bei kleinen Fallzahlen;

Meiner Familie, die mich stets in meinem Handeln bestärkt hat und mir die zusätzliche Bearbeitungszeit für die Arbeit ermöglichte;

Und besonders danke ich meiner Frau, Friederike, die mir bei Textstruktur- und Designfragen kompetent zur Seite stand, und ohne deren ungetrübte Zuversicht und Glauben an mich und meine Arbeit, sicherlich ich, aber nicht dieses Werk fertig wäre.

## **9.2 ROHDATEN**

---

Der zweiten Version dieser Arbeit wurde eine CD mit den gewonnenen Rohbildern mitgeliefert.